Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZURICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK,
R. HARDER-GÖTTINGEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

55. BAND, 3. HEFT
MIT 57 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 31. AUGUST 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Planta (Berl.)

Preis DM 22.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40. — für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1

55. Band **Inhaltsverzeichnis** 3. Heft

Seite

GANTZER, E., Wirkungen von Cumarin auf Wachstums- und Entwicklungsvorgänge und seine Wanderungsfähigkeit im Pflanzengewebe. Mit 10 Textabbildungen 235

PLEMPEL, M., Die zygotropische Reaktion bei Mucorineen. I. Mitteilung. Mit 4 Textabbildungen 254

KERN, H., Zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren. Mit 4 Textabbildungen 259

KREEB, K., Über die gravimetrische Methode zur Bestimmung der Saugspannung und das Problem des negativen Turgors. I. Mitteilung. Mit 6 Textabbildungen 274

KLINGMÜLLER, W., Über die Photolyse von Heteroauxin im ultravioletten Licht. p_H-Abhängigkeit und Einfluß der Sauerstoffkonzentration. Mit 6 Textabbildungen 283

MUSCHIK, M., Über das Zusammenwirken von sichtbarer und infraroter Strahlung auf die Induktion der Ährenanlage von *Hordeum vulgare*. Mit 1 Textabbildung 292

GESSNER, F., und L. HAMMER, Die Photosynthese von Meerespflanzen in ihrer Beziehung zum Salzgehalt. Mit 4 Textabbildungen 306

FRIEDERICHSEN, I., und H. ENGEL, Der Abschußrhythmus der Fruchtkörper von *Sphaerobolus stellatus* (Thode) Pers. Mit 10 Textabbildungen . . . 313

MOHR, H., und A. NOBLÉ, Die Steuerung der Schließung und Öffnung des Plumula-Hakens bei Keimlingen von *Lactuca sativa* durch sichtbare Strahlung. Mit 12 Textabbildungen 327

Planta 55, 235—253 (1960)

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik in Hamburg

WIRKUNGEN VON CUMARIN AUF WACHSTUMS- UND ENTWICKLUNGSVORGÄNGE UND SEINE WANDERUNGSFÄHIGKEIT IM PFLANZENGEWEBE *

Von

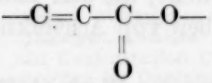
ERHARD GANTZER

Mit 10 Textabbildungen

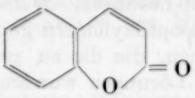
(Eingegangen am 9. April 1960)

Einleitung

Es ist seit langem bekannt, daß Hemmstoffe im Zusammenwirken mit den Wuchsstoffen maßgeblich an der Regulierung des pflanzlichen Wachstums beteiligt sind. Oft ist es aber schwer, eine scharfe Grenze zwischen diesen beiden Stoffgruppen zu ziehen. Denn einerseits wirken viele Hemmstoffe in starker Verdünnung wachstumsfördernd, andererseits aber hemmen auch die Wuchsstoffe in höheren Konzentrationen das Wachstum. Unter den Hemmstoffen bilden die ungesättigten Lactone eine Klasse, die durch die Atomgruppierung



gekennzeichnet ist. Hier ist nun besonders das Cumarin



bereits Gegenstand mehrerer Untersuchungen gewesen, in denen sein Einfluß auf verschiedene Lebensvorgänge beobachtet wurde.

So fanden AUDUS und QUASTEL (1947) bei *Lepidium* und *Daucus*, MOEWUS (1949) bei *Lepidium*, GOODWIN und TAVES (1950) bei *Avena*, LIBBERT (1954) bei *Pisum* und AVERS und GOODWIN (1956) bei *Phleum* eine hemmende Wirkung des Cumarins auf das Wurzelwachstum. AUDUS und QUASTEL untersuchten *Daucus* und *Lepidium* auch hinsichtlich der Samenkeimung; auch hier zeigte sich ein hemmender Einfluß des Cumarins, der von LIBBERT für *Lepidium* bestätigt wurde. Der zuletzt genannte Autor beobachtete bei seinen Versuchen mit *Pisum* auch das Austreiben der Achselknospen und fand ebenfalls eine Hemmung durch Cumarin. Natürlich können die Ergebnisse gewisse Unterschiede aufweisen je nach Pflanzenart und Untersuchungsmethode. HÖHN (1951) dekapitierte seine Versuchspflanzen und führte der Schnittfläche der Epikotylstümpfe Cumarin in Pastenform zu; er erhielt dabei äußerst schwache Hemmungen des Austreibens der Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* und der Kotyledonarknospen von

* Auszug aus einer Dissertation der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Hamburg.

Phaseolus vulgaris. Während nach diesen Versuchen Cumarin also als reiner Hemmstoff erscheint, muß dies nach den Ergebnissen von THIMANN und BONNER (1949), die an *Avena*-Koleoptilzylindern eine Wachstums*förderung* durch schwache Cumarin-Konzentrationen beobachteten, bezweifelt werden.

Mit der vorliegenden Arbeit möchte ich nun versuchen, einige weitere Beiträge zu dieser Frage zu bringen. Dabei knüpfte ich zunächst an Versuche der beiden zuletzt genannten Autoren an, in denen diese den Einfluß von Cumarin im Gemisch mit IES (β-Indolessigsäure) auf das Wachstum von *Avena*-Koleoptilzylindern untersuchten. In THIMANNS und BONNERS Versuchen schwammen die Zylinder an der Oberfläche der zu testenden Lösungen.

Dieser Versuch wurde in meiner Arbeit nun zunächst mehrmals unter Ausdehnung auf größere Konzentrationsbereiche beider Stoffe wiederholt. Ferner wurde er aber dahingehend abgewandelt, daß die Substanzgemische, in Agar gelöst, der apikalen Schnittfläche der Koleoptilzylinder zugeführt wurden; außerdem wurden Cumarin-IES-Gemische im Haferkrümmungstest geprüft. Zum Vergleich wurde auch die dem Cumarin chemisch ähnliche cis-Zimtsäure untersucht.

Gegenstand einer weiteren Versuchsreihe war die Leitung von Cumarin im Pflanzengewebe, und zwar zunächst in der Haferkoleoptile, dann aber besonders im *Raphanus*-Keimling, der dafür besser geeignet ist.

Schließlich folgen Versuche, die den Einfluß von Cumarin auf Zellteilungen und das Austreiben von Achselknospen zeigen.

A. Die Beeinflussung der Wuchsstofftests durch Cumarin

I. Zylindertest mit Wirkstoff-Lösungen. *Methodik.* Bei diesem Test wird die Längenzunahme von *Avena*-Koleoptilzylindern gemessen, wobei diese an der Oberfläche von Lösungen schwimmen, die die zu prüfenden Substanzen enthalten. Zur Herstellung der Wirkstoff-Lösungen wurden Cumarin und das Kaliumsalz der IES in doppelt destilliertem Regenwasser gelöst.

Als Testpflanze diente Weißhafer der Saatgutfirma Gebr. Dippe, Herford. Die etwa 3 Std in Wasser gequollenen Körner wurden in Blumentöpfe mit feuchtem Sägemehl gepflanzt. Sie standen dann 3—4 Tage bei Zimmertemperatur am Tageslicht und nach Erscheinen der Koleoptilspitzen noch einen Tag im Dunkeln. Von den 2—3 cm langen Haferkeimlingen wurde nach Herausziehen des Primärblattes die Koleoptilspitze in einer Länge von 2,5 mm entfernt und dann jeweils ein 5 mm langer Zylinder abgeschnitten. Je vier Koleoptilzylinder wurden auf eine Glasnadel gereiht und jeweils fünf solche Glasnadeln auf die in Petrischalen befindlichen Lösungen gelegt; ein Untersinken wurde durch die Oberflächenspannung verhindert.

Um ein besseres Wachstum der Zylinder zu erzielen, wurden den Lösungen folgende Salze zugesetzt (nach ROBBIN):

$Ca(NO_3)_2$ . . .	333,33 mg/l	$MgSO_4 + 7\ H_2O$ . . .	83,33 mg/l
KH_2PO_4 . . .	83,33 mg/l	KCl	41,67 mg/l
KNO_3	83,33 mg/l	$FeCl_3$	0,83 mg/l

Vor dem Test wurden die Zylinder mehrere Stunden in einer Nährlösung gewässert, die die gleichen Salze enthielt wie die Testlösungen. Hierbei sollte der

pflanzeneigene Wuchsstoff weitgehend verbraucht werden, damit die Wirkung der zu prüfenden Stoffe möglichst unbeeinflußt in Erscheinung treten konnte (Leopold 1955).

Um eine genaue Messung zu ermöglichen, wurde jeder Zylinder mit zwei Markierungspunkten versehen; hierzu wurde in Paraffinöl aufgeschlämmte, fein zerteilte Kohle verwendet. Dadurch wurde zugleich die unmittelbare Nachbarschaft der Schnittflächen, die durch die Verwundung in ihrem Wachstum beeinflußt werden kann, von der Beobachtung ausgeschlossen. Zu Beginn des Versuchs betrug die Länge der Meßstrecke (Abstand der Innenränder der Markierungspunkte) 3,2 mm. Nach 24 Std wurde der Zuwachs gemessen, bei einem Teil der Versuche außerdem nach 4 Std und nach 48 Std. Die Messungen wurden mit einem Mikroskop mit Okularmikrometer vorgenommen, ohne daß dazu die Nadeln mit den Koleoptilzylindern aus den Lösungen genommen werden mußten. Während des Versuchs standen die Petrischalen offen unter Dunkelstürzen.

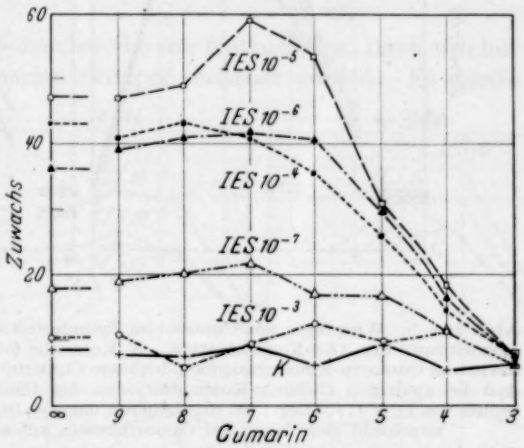


Abb. 1. Wirkungen von Cumarin im Zylindertest mit Lösungen. Abszisse: negativer Logarithmus der Cumarin-Konzentration. Ordinate: Zuwachsbeträge in Teilstrichen des Okularmikrometers (1 Teilstr. = 0,08 mm) in 24 Std. *K* Kontrolle (ohne Zusatz von IES). Anfangslänge der Zylinder 40 Teilstriche. Jeder Kurvenpunkt ist das Mittel aus 80 Einzelmessungen (aus 4 Versuchen)

Ergebnisse. Zunächst wurde der Versuch von Thimann und Bonner wiederholt. In Gegenwart der IES-Konzentration $1:10^7$ fördern mittlere Cumarin-Konzentrationen ($1:10^7$ und $1:10^6$) das Wachstum, stärkere hemmen es. Damit werden die Ergebnisse der oben genannten Autoren vollauf bestätigt.

Während bisher sämtlichen Cumarin-Lösungen die *gleiche* IES-Konzentration ($1:10^7$) zugegeben worden war, wurde das Cumarin im folgenden mit *verschiedenen* IES-Konzentrationen kombiniert. Die Ergebnisse von vier derartigen Versuchen sind in Abb. 1 wiedergegeben. Bei IES-Zugaben von $1:10^7$ bis $1:10^5$, am deutlichsten bei $1:10^5$, tritt wieder eine Wachstumsförderung durch schwache und mittlere, eine Hemmung durch stärkere Cumarin-Konzentrationen hervor, während bei Fehlen von IES sowie bei Zusatz der sehr starken Konzentration von $1:10^3$ sich keine auffällige Wirkung abzeichnet.

Durch die gleichzeitige Prüfung mehrerer Cumarin-Konzentrationsreihen mit einer jeweils anderen IES-Konzentration war nun auch die Möglichkeit gegeben, IES-Wirkungskurven mit bestimmten Cumarin-Konzentrationen aufzustellen. Alle diese Kurven (Abb. 2 u. 3) zeigen

erwartungsgemäß das maximale Wachstum bei mittleren IES-Konzentrationen; sehr starke Konzentrationen wirken schwächer, auch bei

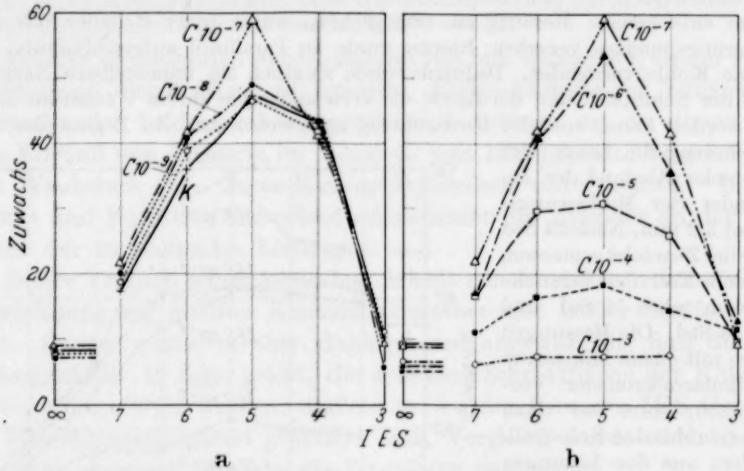


Abb. 2a u. b. Wirkungen von Cumarin im Zylindertest mit Lösungen. Abszisse: negativer Logarithmus der IES-Konzentration. *K* Kontrolle (ohne Cumarin). Sonst wie Abb. 1. a Niedrige Cumarin-Konzentrationen, b höhere Cumarin-Konzentrationen. — Man erkennt, daß bei niedrigen Cumarin-Konzentrationen der theoretische Gipfelpunkt der Kurven rechts von IES $1:10^5$ liegt, bei den höheren dagegen links von $1:10^5$. Das IES-Optimum verschiebt sich daher bei Cumarinzusatz auf schwächere Konzentrationen

Cumarin-Gegenwart. Bei einem Vergleich dieser Kurven untereinander ist nun weiterhin deutlich die fördernde Wirkung schwacher und mittlerer Cumarin-Konzentrationen zu erkennen; die höchste durch IES allein erreichbare Wachstumsleistung wird durch Cumarinzugabe noch um etwa 25% gesteigert. Außerdem scheint sich der Kurvengipfel, also das Wachstumsmaximum, mit stärker werdenden Cumarin-Zu-

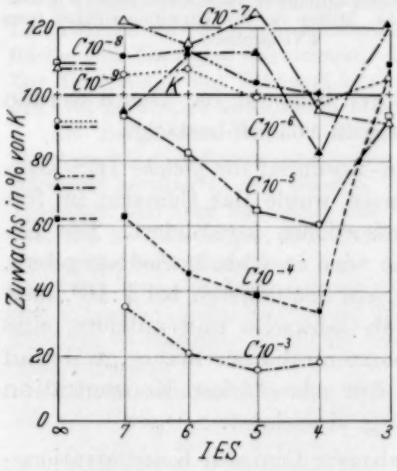


Abb. 3. Wirkungen von Cumarin im Zylindertest mit Lösungen. Abszisse: negativer Logarithmus der IES-Konzentration. Ordinate: Zuwachsbeträge in Prozent der Kontrolle *K* (ohne Cumarin). Sonst wie Abb. 1. — Man erkennt sehr deutlich die wachstumsfördernde Wirkung geringer Cumarin-Konzentrationen bei IES-Gegenwart. Bei den *überoptimalen* IES-Konzentrationen $1:10^4$ und $1:10^3$ ist sie aber erloschen. (Die Werte für IES $1:10^3$ weisen bei sehr geringem absolutem Zuwachs naturgemäß starke Schwankungen auf)

sätzen ein wenig nach links, d. h. auf schwächere IES-Konzentrationen hin, zu verschieben (Abb. 2). Die IES-Konzentration $1:10^5$ fördert zwar in allen Fällen das Wachstum am stärksten, ohne Cumarin und mit

wenig Cumarin (bis $1:10^8$) liegt aber der Kurvenpunkt für IES $1:10^4$ stets *über* dem für $1:10^6$, so daß man schließen muß, daß das genaue IES-Optimum sich etwas *über* $1:10^5$ befindet. Bei höheren Cumarin-Konzentrationen ($1:10^6$ und mehr) ist es gerade umgekehrt; danach muß die optimale IES-Konzentration in diesen Fällen etwas *unter* $1:10^5$ liegen. Der Wachstumsgipfel scheint in den Kurven also mit steigendem Cumaringehalt nach links verschoben zu werden (etwa von $3:10^5$ auf $5:10^6$).

Das Ziel einer weiteren Versuchsreihe war festzustellen, nach welcher Zeit die beobachteten Cumarinwirkungen sichtbar werden. Es wurde

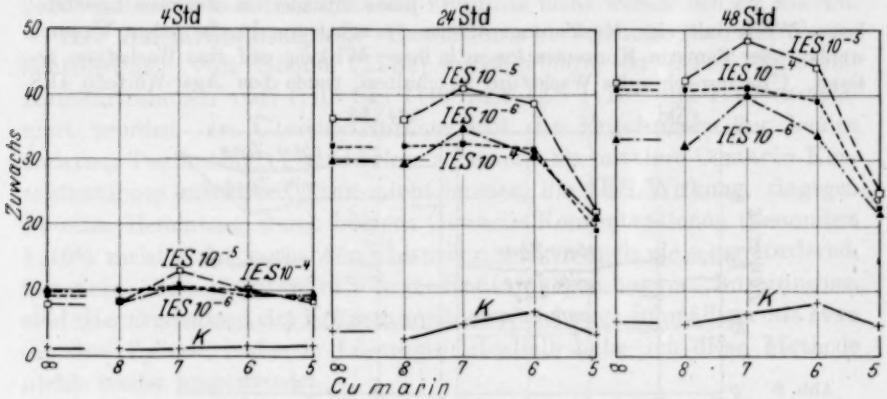


Abb. 4. Wirkungen von Cumarin im Zylindertest mit Lösungen bei verschiedener Versuchsdauer (4, 24 und 48 Std). Jeder Kurvenpunkt ist das Mittel aus 60 Einzelmessungen (aus 3 Versuchen). Sonst wie Abb. 1. — Die Wachstumsförderung durch Cumarin $1:10^7$ ist bereits nach 4 Std erkennbar

deshalb bereits nach 4 Std der Längenzuwachs der Koleoptilzylinder gemessen. Zwei weitere Messungen folgten nach einem Tag und nach zwei Tagen. In Abb. 4 sind die Ergebnisse von drei Versuchen zusammengefaßt. Die bei den vorhergehenden Versuchen beobachteten Wirkungen des Cumarins treten auch hier wieder mehr oder minder deutlich in Erscheinung, wenigstens bei den Kurven der ein- bis zweitägigen Versuchsdauer. Eine dieser Wirkungen, nämlich die Wachstumsförderung durch schwache und mittlere Cumarin-Konzentrationen, zeigt sich aber auch schon nach 4 Std, einwandfrei jedenfalls bei IES-Zusatz von $1:10^5$. Eine Verschiebung des Wachstumsmaximums durch Cumarinzusatz nach schwächeren IES-Konzentrationen dagegen ist in diesem Versuch nicht klar erkennbar; auf keinen Fall jedoch liegt das Wirkungsmaximum der IES bei Cumarin-Gegenwart bei höheren Konzentrationen.

II. Zylindertest mit Agar-Würfeln. *Methodik.* Mit den Testsubstanzen getränkte 9 mm³ große Agar-Würfel wurden auf die Schnittflächen von Koleoptilzylindern mit Gelatine aufgeklebt. Zum Test wurden dann die Zylinder auf zugeschmolzene Glascapillaren geschoben, die senkrecht in Paraffinblöckchen

gesteckt waren, in jedes Blöckchen zehn Stück in einer Reihe (s. Abb. 5). Um die basalen Schnittflächen während des Testes feucht zu halten, wurde ein schmaler wassergetränkter Filterpapierstreifen unten an die Zylinderreihe gestellt und dann noch eine kleine Menge Wasser hinzugegeben. Während der ganzen Versuchsdauer standen die Blöckchen im Dunkeln in wasserdampfgesättigter Atmosphäre, so daß die Agar-Würfel nicht eintrocknen konnten.

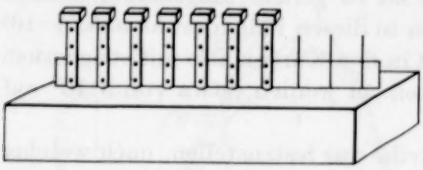


Abb. 5. Zylindertest mit Agar-Würfeln

Bei allen Versuchen dieser Reihe wurde der Zuwachs im apikalen, mittleren und basalen Abschnitt der Zylinder gesondert beobachtet, wozu jeder Zylinder in der oben beschriebenen Weise mit vier Markierungspunkten versehen wurde. In jedem Versuch wurden vier Cumarin-Konzentrationen in ihrer Wirkung auf das Wachstum getestet. Um ausreichendes Wachstum zu erhalten, wurde den Agar-Würfeln IES

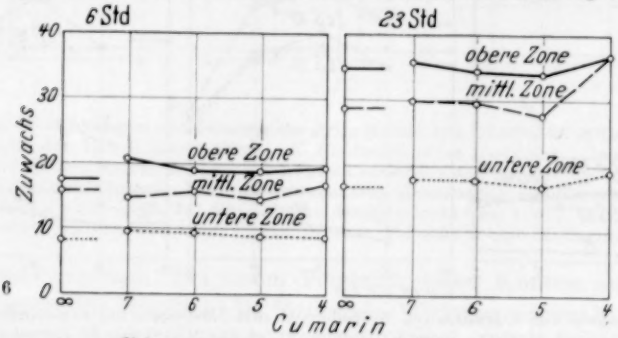


Abb. 6

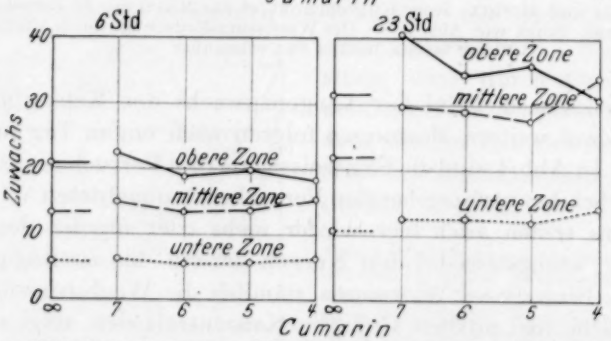


Abb. 7

Abb. 6 u. 7. Zylindertest mit Agar-Würfeln, 2 Versuche über Wirkungen von Cumarin auf die verschiedenen Zonen der Haferkoleoptile. Abszisse: negativer Logarithmus der Cumarin-Konzentration. Ordinate: Zuwachsbeträge der einzelnen Zylinderzonen in Teilstrichen des Okularmikrometers (Anfangslänge jeder Zone 50 Teilstriche). Jeder Kurvenpunkt ist das Mittel aus 10 Messungen. Zur Sicherung ausreichenden Wachstums wurde allen Lösungen IES $3:10^6$ zugegeben

in der Konzentration $1:10^6$ oder $3:10^6$ zugesetzt. Diese Konzentrationen waren nach dem Ergebnis gleichzeitig ausgeführter Kontrollen für alle Zonen unteroptimal, so daß mit Komplikationen durch überoptimale IES-Mengen in den Versuchen nicht zu rechnen ist.

Ergebnisse. Zwei in dieser Weise durchgeführte typisch verlaufene Versuche zeigen die Abb. 6 u. 7. Schwache und mittlere Cumarin-Kon-

zentrationen ($1:10^7$ bis $1:10^5$) wirken in allen drei Zylinderzonen meist (in vier bis fünf von insgesamt sechs Versuchen) ein wenig fördernd, vor allem die Konzentration $1:10^7$. Die starke Konzentration $1:10^4$ ruft überraschenderweise in der mittleren Zylinderzone in allen Versuchen einen auffallenden Wachstumsanstieg im Vergleich zur Konzentration $1:10^5$ und oft (in vier Versuchen) auch im Vergleich zur Kontrolle hervor. In der unteren Zone ist dieser Anstieg (gegenüber Cumarin $1:10^5$) ebenfalls ausnahmslos vorhanden, aber schwächer. Die obere Zone dagegen zeigt bei der Cumarin-Konzentration $1:10^4$ ein wechselndes Verhalten. Wurde anstelle einer IES-Zugabe von $1:10^6$ eine solche von $3:10^6$ geboten, so schien sich das Ergebnis nicht wesentlich zu ändern.

III. Haferkrümmungstest. Es wurden vier Versuche nach der Tageslichtmethode von SÖDING (1952) durchgeführt, in denen Cumarin-Konzentrationen von $1:10^7$ bis $1:10^4$ mit IES $1:10^6$ und $1:10^5$ kombiniert wurden. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen der beiden anderen Testmethoden verstärken schwache bis mittlere Cumarin-Konzentrationen mitunter, aber nicht immer, die IES-Wirkung, dagegen ist eine Hemmung durch höhere Cumarin-Konzentrationen (besonders $1:10^4$) meist nicht vorhanden; bisweilen wirken auch sie sogar fördernd. Cumarin, allein gegeben, ruft keine Krümmungen hervor. Im einzelnen sind die Ergebnisse des Krümmungstestes viel ungleichmäßiger als etwa die des Zylindertestes in Lösungen; deshalb habe ich diese Methode nicht weiter angewendet.

Besprechung der bisherigen Ergebnisse

Bei einem Überblick über die mitgeteilten Versuche kann gesagt werden, daß *eine* Wirkung bei allen drei Testmethoden auftritt: Förderung des Koleoptilenwachstums durch schwache und mittlere, Hemmung durch stärkere Cumarin-Konzentrationen. Dieses Verhalten läßt sich aber nicht überall mit gleicher Regelmäßigkeit und Deutlichkeit beobachten. Besonders stark ausgeprägt ist es beim Zylindertest mit Lösungen, weniger gut beim Zylindertest mit Agar-Würfeln und nur angedeutet beim Krümmungstest.

Daß der Zylindertest mit Lösungen hier die klarsten Ergebnisse liefert, ist durchaus verständlich. In den Lösungen stehen die Wirkstoffe praktisch unbegrenzt zur Verfügung, während in den Agar-Würfeln ihre Absolutmenge nur gering und vermutlich nach einiger Zeit erschöpft ist; außerdem können sie aus der Lösung durch beide Schnittflächen und darüber hinaus noch in geringem Maße durch die Cuticula der gesamten Zylinderoberfläche hindurch in das Gewebe eindringen, so daß also viel mehr Zellen in die Reaktionen einbezogen werden. Die klareren Ergebnisse des Lösungstestes sind also leicht begreiflich.

Weiter ist zu beachten, daß die Teste Empfindlichkeitsschwankungen zeigen. Beim Krümmungstest sind sie bekanntlich ganz besonders

ausgeprägt, was darin zum Ausdruck kommt, daß sich nicht nur die Lage des Maximums verschiebt, sondern sogar die Gestalt der Wirkungskurve schwanken kann. Darauf beruht es jedenfalls, daß gerade dieser Test auch die Gesetzmäßigkeiten der Cumarinwirkung am wenigsten deutlich zeigt.

Vor einem Versuch, die Cumarinwirkung biologisch zu erklären, ist es wohl nötig zu fragen, ob Cumarin und IES nicht bereits in vitro chemisch miteinander reagieren. Obwohl dies nach dem Molekülbau unwahrscheinlich ist, habe ich diese Möglichkeit doch geprüft. Durch Extinktionsmessung der vom Cumarin bzw. von der IES jeweils am stärksten absorbierten Wellenlänge (200,0 bzw. 220,4 mμ) wurde nachgewiesen, daß Cumarin und IES, gemeinsam in Wasser gelöst, ihre Konzentrationen vier Tage lang unverändert beibehalten. Zu dem gleichen Ergebnis führte auch eine biologische Prüfung. Hierbei wurde IES im Gemisch mit Cumarin in wässeriger Lösung zwei Tage lang stehengelassen. Nach chromatographischer Abtrennung des Cumarins ergab die IES im Hafertest denselben Krümmungswert wie die Kontrolle (IES, die ohne Cumarin in Lösung gestanden hatte — 24,1° bzw. 24,0°). Offensichtlich reagieren IES und Cumarin also in vitro nicht miteinander.

Bei dem nun folgenden Versuch, die biologische Wirkung des Cumarins zu erklären, soll eine Reihe von Möglichkeiten besprochen werden, die bezüglich des Zusammenwirkens von Wuchs- und Hemmstoffen schon von verschiedenen Autoren erörtert worden sind. Zunächst seien für die Hemmungen durch starke Cumarin-Konzentrationen einige Erklärungen zur Diskussion gestellt:

1. Konkurrenz zwischen Cumarin und Wuchsstoff um die Wirkorte in der Zelle (Antagonismus mit Wuchsstoff),
2. Hemmung der Wuchsstoffaufnahme in die Zellen,
3. Bildung eines Hemmstoffes aus Cumarin und Wuchsstoff,
4. Förderung der enzymatischen Wuchsstoffinaktivierung,
5. Hemmung der enzymatischen Wuchsstoffaktivierung,
6. Störung der Wuchsstoffleitung in der Pflanze,
7. Unmittelbare Hemmwirkung des Cumarins, etwa durch Plasmaverhärtung oder durch Herabsetzung der Plasmapermeabilität.

Die einzelnen Möglichkeiten seien nacheinander besprochen.

Zu 1. In den letzten Jahren sind zahlreiche Stoffe bekannt geworden, die durch Konkurrenz mit Wuchsstoff (IES) um dessen Wirkorte in der Zelle wachstumshemmend wirken. Wäre das auch hier der Fall, dann würde eine IES-Konzentration, die, allein gegeben, optimal wirkt, bei Cumarinzugabe unteroptimal wirken, weil das Cumarin einen Teil der IES von ihren Wirkorten verdrängte. Dann müßte durch entsprechende Mehrgabe an IES, die ihrerseits wieder teilweise das Cumarin verdrängte, das Wachstumsmaximum wieder erreicht werden können, d. h. also, das Wachstumsmaximum wäre bei Cumarinzusatz auf *höhere* IES-Konzentrationen verschoben. Die Versuche zeigen aber im Gegenteil, daß Zugabe von Cumarin eher eine Verschiebung des IES-Optimums auf

niedrigere, keinesfalls jedoch auf höhere Konzentrationen bewirkt; auch wird bei Gegenwart von Cumarin-Konzentrationen von $1:10^5$ und stärker das ohne Cumarin stattfindende Wachstum nicht erreicht (abgesehen allerdings von der bereits unphysiologischen IES-Konzentration $1:10^3$ mit sehr geringem absolutem Wachstum — vgl. Abb. 2 u. 3). Das letztere dieser beiden Ergebnisse erhielten auch BONNER u. BANDURSKI (1952), die allerdings nur *eine* Cumarin-Konzentration ($3:10^5$) prüften; auch sie schließen daraus, daß Cumarin nicht durch Konkurrenz mit Wuchsstoff hemmend wirkt.

Zu 2. Bei Hemmung der Wuchsstoffaufnahme durch Cumarin müßte das Wirkungsmaximum der IES ebenfalls auf höhere Konzentrationen verschoben werden. Das ist aber nicht der Fall.

Zu 3. Die Bildung eines Hemmstoffes aus Cumarin oder ähnlichen Stoffen und IES wird von LIBBERT (1954) angenommen. Würde ein solcher Hemmstoff auch in der Haferkoleoptile entstehen, so wäre zu erwarten, daß bei Zugabe eines Überschusses an Cumarin gegenüber IES bei einer Reaktion Cumarin + IES → Hemmstoff praktisch die gesamte IES verbraucht werden würde; da dann kein Wuchsstoff, aber viel Hemmstoff anwesend wäre, müßte das Wachstum erlöschen. Das ist aber keineswegs der Fall; nur die höchsten Cumarin-Konzentrationen ($1:10^4$ und stärker) zeigen gegenüber der Kontrolle (ohne Cumarin und ohne IES) eine geringe Hemmung (Abb. 1). Cumarin-Konzentrationen von $1:10^5$ und schwächer wirken nicht einmal hemmend, auch nach zwei Tagen noch nicht (Abb. 4). Die Cumarinhemmung beruht also nicht auf der Bildung eines neuen Hemmstoffes aus Cumarin und IES.

Zu 4. Auch bei einer Verstärkung der Wuchsstoffinaktivierung durch Cumarin müßte das IES-Wirkungsmaximum bei *höheren* Konzentrationen liegen.

Zu 5. Eine Hemmung der enzymatischen Aktivierung des natürlichen Wuchsstoffes in der Zelle könnte bei Zuführung derart großer IES-Mengen, wie sie die Konzentrationen $1:10^6$ bis $1:10^4$ darstellen, überhaupt kein meßbares Nachlassen des Wachstums verursachen. Gerade dann aber hemmt Cumarin besonders stark

Zu 6. Wenn die Wuchsstoffleitung in den Koleoptilzylindern durch Cumarin gestört werden würde, müßte sich sowohl der zugegebene als auch der natürliche, unterhalb der oberen Schnittfläche aktivierte Wuchsstoff in den oberen Zylinderzonen ansammeln, während die unteren daran verarmten. Man müßte also gleichzeitig Förderungen der oberen und Hemmungen der unteren Zonen beobachten, wie das MORGAN u. SÖDING (1958) für das Phthalsäuremono-α-naphthylamid getan haben. Die Versuche mit markierten Zonen im Zylindertest mit Agar-Würfeln (Abb. 6 u. 7) zeigen aber (mit einziger Ausnahme der mittleren Zone bei Cumarin $1:10^4$) ein durchweg gleiches Verhalten des Wachstums *aller*

Zonen. Zwar ist der Zuwachsbetrag der oberen Zone stets größer als der der mittleren und der unteren Zone, bei Cumarin-Gegenwart ist dieser Mehrbetrag aber nicht größer als bei Fehlen von Cumarin Die natürliche Wuchsstoffleitung kann demnach durch das Cumarin nicht gestört sein.

Dieser Schluß wird auch durch die Tatsache gestützt, daß Cumarinzugabe die IES-Krümmungen im Haferkrümmungstest meist nicht herabsetzt. Die polare Wuchsstoffleitung, die bekanntlich Voraussetzung für das Eintreten dieser Krümmungen ist, war hier offenbar nicht beeinträchtigt. Eine Störung dieser Leitung müßte auch darin zum Ausdruck kommen, daß die Krümmungen auf den oberen Bereich der Koleoptile beschränkt blieben, also knickartig würden. Das war aber wiederum nicht der Fall.

Zu 7. Eine unmittelbare wachstumshemmende Wirkung des Cumarins steht nicht im Widerspruch zu meinen Ergebnissen. Eine solche könnte etwa auf dem Wege über eine Herabsetzung der Plastizität der Zellwände erfolgen, wie sie bereits Burström (1956) für Wurzeln angegeben hat. Auch wäre es denkbar, daß Cumarin die Wasserpermeabilität des Plasmas verringert (v. Guttenberg u. Beythien 1951) oder zum Wachstum notwendige Enzyme blockiert (Thimann u. Bonner 1949). Über den Mechanismus dieser Hemmungen können meine Versuche naturgemäß keine Auskunft geben.

Es ist wohl einleuchtend, daß die durch das Cumarin hervorgerufenen Hemmungen nur dann deutlich werden können, wenn überhaupt annähernd normales Wachstum möglich ist, nicht aber, wenn das Wachstum abgeschnittener Zylinder durch Wuchsstoffmangel oder abnorm hohe, fast schon toxisch wirkende Wuchsstoffmengen ($1:10^3$) beinahe ganz sistiert ist.

Für die Förderungen durch schwache und mittlere Cumarin-Konzentrationen könnten folgende Annahmen gemacht werden:

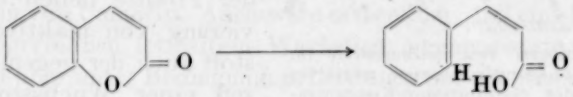
1. Konkurrenz zwischen Cumarin und Wuchsstoff um „Fehlstellen" im Plasma (Synergismus mit Wuchsstoff),
2. Förderung der Wuchsstoffaufnahme in die Zellen,
3. Bildung von cis-Zimtsäure aus Cumarin,
4. Hemmung der enzymatischen Wuchsstoffinaktivierung,
5. Förderung der enzymatischen Wuchsstoffaktivierung,
6. Stimulation des Wachstums als Folge einer leichten Giftwirkung.

Zu 1. Als „Fehlstellen" werden Orte im Plasma bezeichnet, an denen Wuchsstoffe adsorbiert werden können, ohne daß dadurch das Wachstum in irgendeiner Weise beeinflußt wird. Eine Förderung könnte dann dadurch zustande kommen, daß ein Teil der IES, der an den Fehlstellen „verlorenginge", durch Cumarin von diesen verdrängt werden würde und nun für das Wachstum zusätzlich zur Verfügung stände. (Eine solche Theorie haben zuerst Thimann u. Bonner 1948 für die

Trijodbenzoesäure entwickelt.) Durch diese Förderung könnte aber höchstens die gleiche Wachstumsleistung erreicht werden wie durch die optimale IES-Konzentration allein (ohne Cumarinzugabe). In meinen Versuchen ist aber gerade die Tatsache auffallend, daß das durch IES allein erreichte Maximum durch Cumarinzugabe noch um fast 25% gesteigert wird (Abb. 2 u. 3). Deshalb kann eine Besetzung von Fehlstellen durch Cumarin die Wachstumsförderungen nicht erklären.

Zu 2. Wenn Cumarin die Wachstumsförderungen dadurch hervorriefe, daß es die Wuchsstoffaufnahme in die Zellen erleichterte, so müßte das bei IES- und Cumarin-Gegenwart erzielte Wachstumsmaximum durch weitere Zugabe von IES auch ohne Cumarin erreicht werden können. Das ist aber nicht der Fall (s. Abb. 2).

Zu 3. Die Wachstumssteigerungen durch Cumarin könnte man zunächst als Folge einer Umwandlung in einen Wuchsstoff deuten. Wegen ihrer dem Cumarin ähnlichen chemischen Struktur käme hierfür besonders die cis-Zimtsäure in Betracht. (Auf diese Möglichkeit hat bereits BENTLEY 1958 hingewiesen.) Die vermutete Umwandlung würde dann in einer Öffnung des Ringsystems unter gleichzeitiger Wasserstoffanlagerung bestehen:



Da sich die Frage, ob eine Umwandlung von Cumarin in cis-Zimtsäure in der Pflanze stattfindet, durch einen direkten cis-Zimtsäure-Nachweis aus technischen Gründen nicht klären ließ, wurde die Wirkung dieser Verbindung im Gemisch mit IES im Zylindertest untersucht. Es wurden drei Versuche in der im Teil A I geschilderten Weise durchgeführt, deren Ergebnisse in Abb. 8 zusammengefaßt sind. Wie ein Vergleich der Wirkungskurven des Cumarins (Abb. 1) und der cis-Zimtsäure (Abb. 8) miteinander zeigt, fördern beide Stoffe in schwachen bis mittleren und hemmen in stärkeren Konzentrationen das Wachstum der Koleoptilzylinder. Während jedoch Cumarin dieses Verhalten nennenswert nur bei Anwesenheit von IES zeigt (am deutlichsten bei $1:10^5$), ist es bei cis-Zimtsäure umgekehrt gerade bei Fehlen von IES am stärksten ausgeprägt, wird bei Zugabe geringer IES-Mengen schwächer und ist bei Anwesenheit von IES $1:10^6$ ganz verschwunden. Auch wird die maximale durch IES erreichbare Wachstumsleistung durch Zusatz von cis-Zimtsäure nicht weiter gesteigert wie bei Cumarin. Die Cumarinkurven können also keine „verkappten" cis-Zimtsäure-Kurven sein. Die cis-Zimtsäure verhält sich vielmehr so, wie das von einem schwachen Wuchsstoff mit erheblichem Bindungsvermögen für die Wirkorte der IES in der Zelle und allerdings einer gewissen Giftwirkung

zu erwarten ist. (Die Giftwirkung wird bei der hohen Konzentration $1:10^4$ sehr deutlich.) Abb. 8 zeigt, daß cis-Zimtsäure, allein gegeben, beträchtliche Wachstumsförderungen hervorruft, wenigstens in mittleren Konzentrationen, während sie im Gemisch mit mittleren und meist auch mit höheren Konzentrationen des starken Wuchsstoffes IES dessen Wirkung herabsetzt, jedenfalls durch Konkurrenz um die Wirkorte in der Zelle (s. Abb. 8).

Nach diesen Ergebnissen ist also auch eine Umwandlung in cis-Zimtsäure nicht als Ursache der Cumarinwirkungen anzusehen. Diese Folgerung wird noch gestützt durch die Tatsache, daß cumarinbedingte Wachstumssteigerungen meist schon nach 4 Std auftreten (s. Abb. 4). Aus einer Umsetzung des Cumarins könnte nach dieser kurzen Zeit wohl kaum schon soviel cis-Zimtsäure entstanden sein, daß sich sichtbare Wirkungen einstellten.

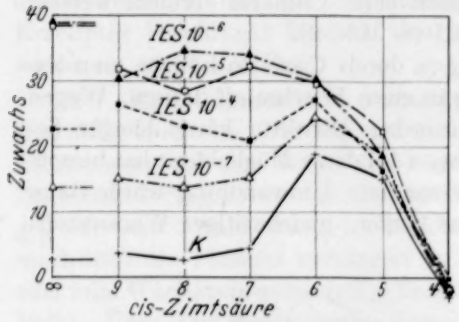


Abb. 8. Wirkungen von cis-Zimtsäure im Zylindertest mit Lösungen. Abszisse: negativer Logarithmus der cis-Zimtsäure-Konzentration. Jeder Kurvenpunkt ist das Mittel aus 60 Einzelmessungen (aus 3 Versuchen). Sonst wie Abb. 1

Zu 4. Es ist bekannt, daß in der Pflanze neben einer Aktivierung von inaktivem Wuchsstoff auch der gegenläufige Prozeß einer Wuchsstoffinaktivierung vor sich geht. Wenn Cumarin diese Inaktivierung hemmte, so würde das eine Wachstumsförderung verursachen, die, gemessen an dem ohne Cumarin stattfindenden Wachstum, um so deutlicher sein müßte, je weniger Wuchsstoff vorhanden wäre; denn die Inaktivierung würde bei Anwesenheit großer IES-Mengen kaum ins Gewicht fallen. Ohne IES-Zugabe müßte die Wachstumsförderung also besonders hervortreten; gerade dann ist sie aber sehr undeutlich oder fehlt ganz (s. Abb. 1).

Zu 5. Die abgetrennten Koleoptilzylinder besitzen einen gewissen Vorrat an inaktivem Wuchsstoff, der nach seiner Aktivierung zusammen mit dem zugesetzten Wuchsstoff das Ausmaß des Wachstums bestimmt. Wenn nun Cumarin das Wachstum dadurch förderte, daß es die Wuchsstoffaktivierung steigerte, würden die Zylinder *mit* Cumarin zwar anfänglich schneller wachsen als diejenigen *ohne* Cumarin, da aber der Vorrat an inaktivem Wuchsstoff in beiden Fällen gleich groß ist, müßte das Wachstum auch in beiden Fällen schließlich den gleichen Betrag erreichen. Das ist aber nicht der Fall. Die Förderung durch Cumarin ist auch noch nach zwei Tagen deutlich (s. Abb. 4). Auch wäre nicht zu verstehen, wie der geringe Eigengehalt der Zylinder an natürlichem

Wuchsstoff gegenüber einer IES-Konzentration von $1:10^5$ überhaupt einen Ausschlag geben sollte, und doch ist gerade hier die Cumarinförderung sehr deutlich (s. Abb. 1).

Auffallend ist die Wachstumsförderung der mittleren Zylinderzone im Zylindertest mit Agar-Würfeln, vor allem nach längerer Zeit. Die Frage, ob hier (und in Tumoren, die unter Einwirkung von Cumarin entstehen, s. Teil C) eine (vielleicht mittelbare) *lokale* Förderung der Wuchsstoffaktivierung stattgefunden hat, läßt sich auf Grund dieser Versuche nicht beantworten.

Zu 6. Nach dem Arndt-Schulzeschen Gesetz können auf pflanzliches Gewebe einwirkende Reize, die in starken Dosen Schädigungen verursachen, in geringen Mengen geboten, stimulierend wirken. Wie bereits oben vermutet, sind die Wachstums*hemmungen* durch stärkere Cumaringaben wahrscheinlich Folgen derartiger Schädigungen. Die Annahme nun, daß es sich bei den *Förderungen* durch schwächere Cumarin-Konzentrationen um Stimulationswirkungen handelt, steht ebenfalls durchaus im Einklang mit meinen Ergebnissen. Bei einer allgemeinen Aktivierung des Wachstumsstoffwechsels wäre sowohl die Erhöhung der maximalen, allein durch IES erreichbaren Wachstumsleistung verständlich als auch die Tatsache, daß dieses Maximum bei gleichzeitiger Cumarin-Gegenwart bereits bei geringeren IES-Konzentrationen eintritt als bei Fehlen von Cumarin. Auch wäre es denkbar, daß eine Stimulation nur bei einigermaßen lebhaftem Wachstum nennenswerte Wirkungen zeitigt, nicht aber unter Bedingungen, bei denen nur ein abnorm geringes, schleppendes Wachstum stattfindet, wie es bei abgeschnittenen fast wuchsstofffreien Zylindern in Lösungen ohne IES der Fall ist. Tatsächlich erfolgt in den Testen auch so gut wie keine Stimulation durch Cumarin ohne gleichzeitige Zufuhr von IES (s. Abb. 1).

Zusammenfassend ergibt sich, daß das Cumarin wahrscheinlich als Giftstoff wirkt, in stärkeren Konzentrationen schädigend, in geringeren stimulierend auf das Wachstum. Ein direkter Zusammenhang der Cumarinwirkungen mit dem IES-Stoffwechsel scheint nicht zu bestehen (vielleicht abgesehen von einer Förderung der Auxinaktivierung unter ganz bestimmten Bedingungen).

B. Der Cumarintransport im Pflanzengewebe

Die Bedeutung eines Stoffes für die Pflanze beruht wesentlich auch auf seiner Transportfähigkeit im Gewebe. Zwar u. Rijven (1956) glauben bewiesen zu haben, daß die von ihnen untersuchten Hemmstoffe, darunter auch Cumarin, in der Pflanze nicht geleitet würden. Bei ihren Versuchen setzten sie „Donatorplatten" aus Agar mit den betreffenden Stoffen (s. Abb. 9) auf die apikalen Schnittflächen von *Phaseolus*-Hypokotylstücken, die ihrerseits auf „Receptorplatten" mit IES standen. Ein Transport dieser Stoffe, also ihre Anwesenheit in den

Receptorplatten nach einer bestimmten Versuchsdauer, sollte sich dann dadurch erweisen, daß die Receptorplatten bei der Untersuchung im Hafertest schwächere Krümmungen ergäben als die Kontrolle (Receptorplatten mit IES, auf der Hypokotylstücke mit „leeren" Donatorplatten gestanden hatten). Dieser Schluß darf jedoch nur für diejenigen Stoffe gezogen werden, die IES-Krümmungen im Hafertest regelmäßig herabsetzen. Wie die Ergebnisse des ersten Teils dieser Arbeit zeigen, trifft das aber für *Cumarin nicht* zu. (ZWAR u. RIJVEN fanden übrigens auch selbst, daß Cumarin die IES-Krümmungen nicht herabsetzt, vgl. Tabelle 2 ihrer Arbeit; um so weniger verständlich ist ihre Schlußfolgerung.)

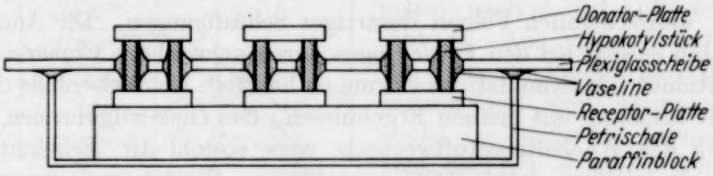


Abb. 9. Versuchsanordnung für die Transportversuche mit Cumarin

In den nun folgenden Versuchen sollte deshalb mit einer direkten physikalischen, sehr empfindlichen Nachweismethode geprüft werden, ob die Receptorplatten aus den pflanzlichen Gewebestücken Cumarin empfangen. Es wurden anfänglich Koleoptilzylinder von *Avena*, in den Hauptversuchen aber die technisch besser geeigneten Hypokotylstücke von *Raphanus sativus* untersucht.

Die entsprechend vorbereiteten Pflanzenteile wurden jeweils zu vieren auf Receptorplatten ($1{,}3 \times 7 \times 7$ mm) gestellt. Dann wurden Donatorplatten gleicher Größe mit einer Cumarin-Konzentration von $2{,}6 : 10^4$ auf die Pflanzenteile gesetzt (s. Abb. 9). Alle Agarplatten wurden vorher angefeuchtet, um einen sicheren Kontakt mit den Schnittflächen herzustellen. Das Ganze wurde in eine geschlossene Petrischale gestellt, die mit feuchtem Filterpapier ausgelegt war, um ein Trocknen der Agarplatten zu verhindern. Jeder Versuch wurde ausgeführt mit einer Serie von Pflanzenteilen in normaler Stellung und mit einer, in der diese invers standen, d. h. mit den apikalen Schnittflächen auf der Receptorplatte (die Donatorplatte wurde hier also auf die basalen Schnittflächen gesetzt). Jede Serie bestand aus 12×4 Pflanzenteilen mit 12 Donator- und 12 Receptorplatten. Nach fünf- bis sechsstündigem Stehen in der feuchten Atmosphäre wurde der Versuch abgebrochen.

Bei dieser Anordnung zeigte sich bald, daß das leicht verfliegende Cumarin bereits auf dem Wege über die Luft von den Donator- in die Receptorplatten überging. Um diesen Fehler auszuschalten, wurde der Luftraum um die Donatorplatten von dem um die Receptorplatten getrennt. Dazu wurde der Rand jeder Petrischale mit Vaseline bestrichen und dann eine Plexiglasscheibe daraufgelegt, die für den Durchtritt der Pflanzenteile mit der entsprechenden Anzahl Löcher versehen war (s. Abb. 9). Diese wurden nach dem Hindurchstecken der Pflanzen mit Vaseline abgedichtet.

In dieser Weise wurde zunächst mit Koleoptilzylindern gearbeitet. Sie erwiesen sich aber als wenig geeignet für diese Versuche; denn es ließ sich nicht

vermeiden, daß beim Schneiden der mit Vaseline gefüllten Zylinder die Schnittflächen verschmiert wurden. Wurde aber als Füllung Gelatine verwendet, so diffundierten geringe Mengen Cumarin durch die Gelatine im Hohlraum der Zylinder hindurch in die Receptorplatten, wie Kontrollversuche zeigten, in denen anstatt der Koleoptilzylinder gleich große Glasröhrchen benutzt worden waren (allerdings war diese Menge bei den Glasröhrchen meist kleiner als bei den *Avena*-Zylindern, so daß sich doch bereits ein Hinweis auf eine Cumarinleitung in der Pflanze ergab). In den Hauptversuchen wurden *Raphanus*-Hypokotyle und als Kontrolle entsprechend große Glasstäbchen verwandt. In diesen Kontrollen wurde nun kein Übergang von Cumarin von den Donator- in die Receptorplatten mehr beobachtet.

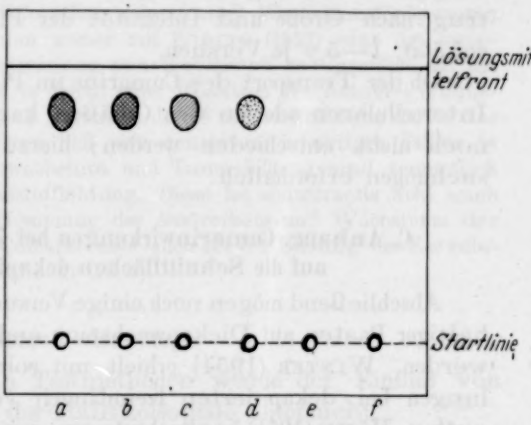


Abb. 10. Schema eines Chromatogramms der Transportversuche mit Hypokotyl-Abschnitten von *Raphanus sativus*. *a* Hypokotylstücke, 8 mm, Stellung normal, Donatorplatten mit Cumarin; *b* Hypokotylstücke, 8 mm, Stellung invers, Donatorplatten mit Cumarin; *c* Hypokotylstücke, 10 mm, Stellung normal, Donatorplatten mit Cumarin; *d* Hypokotylstücke, 12 mm, Stellung normal, Donatorplatten mit Cumarin; *e* Hypokotylstücke, 8 mm, Stellung normal, Donatorplatten ohne Cumarin; *f* Glasstäbchen, 8 mm, Stellung normal, Donatorplatten mit Cumarin

Die Receptorplatten jeder Serie wurden jeweils in 5 cm³ 65%igem Alkohol eine Stunde lang eluiert. Die Waschlösungen wurden bis auf etwa 0,2 cm³ eingeengt, auf Chromatogrammpapier (Schleicher & Schüll 602 h:p) aufgetragen und aufsteigend chromatographiert. Zur Herstellung des Lösungsmittels wurden n-Butanol, Ammoniak (25%ig) und Wasser im Mengenverhältnis 10:1:10 im Scheidetrichter geschüttelt und die organische Phase als Chromatographierlösung verwendet. Hiermit wurde eine recht gute Trennung des Cumarins von den Pflanzeninhaltsstoffen, die mit in die Receptorplatten gelangt waren, erreicht. Nach dem Entwickeln wurde das Chromatogramm getrocknet und mit 2 n-NaOH besprüht (Swain 1953), wobei das Cumarin in Cumarinsäure übergeht, und anschließend ultravioletter Strahlung ausgesetzt (Hg-Dampflampe mit Schwarzfilter). Unter der Einwirkung von UV-Strahlen geht Cumarinsäure nach kurzer Zeit bis zu einem bestimmten Gleichgewicht in ihre trans-Form, die Cumarsäure, über, die ein grünlich-weißes Fluorescenzlicht aussendet (Schwarze u. Hofschmidt 1959). Diese Methode ist äußerst empfindlich; 0,01 γ Cumarin in einem Fleck von 1 cm² Fläche ist noch gut nachweisbar.

In der beschriebenen Weise wurden fünf Versuche mit *Raphanus*-Hypokotylen ausgeführt. Sie ergaben eine Leitung des Cumarins in beiden morphologischen Richtungen. In einem Teil der Versuche wurden verschieden lange Gewebestücke (8, 10 und 12 mm) verwendet; dabei zeigte sich, daß mit zunehmender Länge die hindurchgeleitete Cumarinmenge entsprechend abnahm. Ein Versuch mit „leeren" Donatorplatten ergab, daß die *Raphanus*-Hypokotyle selbst kein Cumarin und auch

keinen Stoff enthalten, der auf dem Chromatogramm mit Cumarin verwechselt werden kann.

Diese Versuchsreihe hat also ergeben, daß Cumarin im *Raphanus*-Hypokotyl geleitet wird, und zwar in beiden Richtungen gleichermaßen. Die zu den eluierten Receptorplatten gehörenden Donatorplatten hatten insgesamt 200 γ Cumarin je Versuch erhalten und waren von 48 Hypokotylstücken getragen worden. Die transportierte Cumarinmenge betrug, nach Größe und Intensität der Flecke im Chromatogramm geschätzt, 1—5 γ je Versuch.

Ob der Transport des Cumarins im Plasma erfolgt oder etwa in den Intercellularen oder in den Gefäßen, kann auf Grund dieser Versuche noch nicht entschieden werden; hierzu wären noch weitere Untersuchungen erforderlich.

C. Anhang. Cumarinwirkungen bei Zuführung in Pastenform auf die Schnittflächen dekapitierter Keimlinge

Abschließend mögen noch einige Versuche über die Wirkung cumarinhaltiger Pasten auf Dickenwachstum und Seitentriebbildung mitgeteilt werden. WINTER (1954) erhielt mit solchen Pasten Stengelanschwellungen bei dekapitierten Keimlingen von *Beta*, *Phaseolus* und *Helianthus*. HÖHN (1951) beobachtete eine geringe Hemmung des Austreibens der Seitentriebe geköpfter und mit Cumarinpasten behandelter Keimlinge von *Linum* und *Phaseolus*.

Ich arbeitete mit 0,2%igen Cumarinpasten, die ich auf die Schnittflächen oberhalb der Kotyledonen bzw. der Primärblätter dekapitierter Keimlinge von *Helianthus annuus* bzw. *Phaseolus coccineus* brachte. *Helianthus* reagierte in allen Fällen (24 Pflanzen), *Phaseolus* nur in 60% der Fälle (= 16 Pflanzen) mit tumorartigen Verdickungen, die durchschnittlich das Doppelte bzw. das Zweieinhalbfache des Durchmessers der unverdickten Sproßachse ausmachten. Mitunter (bei *Helianthus* in einem, bei *Phaseolus* in zwei von je fünf Versuchen) ließen sich auch deutlich nachweisbare Wuchsstoffmengen aus den Tumoren in Agar auffangen, während die Kontrollen keinen oder (in einem Falle) doch nur eine geringere Menge an Wuchsstoff abgaben. Hierbei war darauf geachtet worden, daß auf den Agar-Würfeln jeweils gleiche Querschnittsflächen von Stengeln bzw. Tumoren standen, so daß die Wuchsstoffabgabe von 1 Tumor mit der von 4—6 unverdickten Stengeln verglichen wurde. Bei den mit Cumarin behandelten *Helianthus*-Pflanzen waren nur 50% der Achseltriebe entwickelt, bei den Kontrollpflanzen dagegen 85%; in der Länge bestand kein deutlicher Unterschied. Bei *Phaseolus* hatten die mit Cumarin behandelten Pflanzen 83% der Achseltriebe zur Entwicklung gebracht (die Kontrollpflanzen 100%); die Durchschnittslänge betrug bei den Pflanzen mit

Cumarinpasten nur 13 cm (Mittel von 50 Achseltrieben), bei den Kontrollen dagegen 20 cm (Mittel von 102 Achseltrieben). Bei jeder der beiden Arten ergab sich somit eine gewisse Hemmung der Seitentriebe durch Cumarin. — Die Ergebnisse von WINTER und HÖHN werden durch meine Versuche also vollauf bestätigt.

Die Anregung von Stengelanschwellungen durch Cumarin ist zunächst schwer verständlich. Beachtet man aber, daß Cumarin unter bestimmten Bedingungen, wie meine Versuche mit *Avena*-Koleoptilen zeigen, auch Wachstumsförderungen hervorrufen kann, und nimmt man weiter mit SÖDING (1952) eine Art autokatalytische Entstehung oder Aktivierung von Wuchsstoff im Cambium an als Folge einer Wachstumssteigerung in Form einer Reaktion Wachstum → Wuchsstoff → Wachstum usw., so wird eine Anregung der Wuchsstoffbildung durch das Cumarin vielleicht begreiflich. Diese ließ sich wenigstens in einigen Fällen ja auch direkt beobachten. Dickenwachstum und Tumorbildung sind vermutlich eine Folge der vermehrten Wuchsstoffbildung. Diese ist andererseits wohl auch die Ursache für die korrelative Hemmung des Austreibens und Wachstums der Seitentriebe. Möglicherweise ist Cumarin aber auch an der Bildung des Korrelationshemmstoffes beteiligt (vgl. LIBBERT 1954).

Zusammenfassung

1. Mit drei verschiedenen Testmethoden wurde der Einfluß von Cumarin auf das Wachstum der Haferkoleoptile untersucht.

a) Im *Zylindertest mit Lösungen* bleibt Cumarin, *allein* gegeben, in schwachen Konzentrationen ($1:10^9$ bis $1:10^8$) wirkungslos; in mittleren Konzentrationen ($1:10^7$ bis $1:10^5$) fördert es mitunter ein wenig und in starken ($1:10^4$ bis $1:10^3$) hemmt es etwas das Wachstum der Zylinder. *Bei Gegenwart von IES* sind schwache Cumarin-Konzentrationen ebenfalls meist wirkungslos, mittlere ($1:10^7$ bis $1:10^6$) fördern das Wachstum, stärkere hemmen es. Die Förderungen durch mittlere Cumarin-Konzentrationen sind bei Fehlen von IES, wenn überhaupt vorhanden, nur schwach, werden bei Zugabe niedriger IES-Konzentrationen stärker und sind bei Gegenwart von IES $1:10^5$ am deutlichsten, während sie bei Anwesenheit starker IES-Konzentrationen verschwinden. Die maximale durch IES allein erreichbare Wachstumsleistung kann durch Cumarinzusatz noch gesteigert werden; dabei verschiebt sich anscheinend das Wachstumsmaximum auf etwas niedrigere IES-Konzentrationen. Die Förderungen durch mittlere Cumarin-Konzentrationen treten bereits nach 4 Std auf.

b) Beim *Zylindertest mit Agar-Würfeln* wurden die Koleoptilzylinder in drei Zonen unterteilt. Zusammen mit IES ($1:10^6$ oder $3:10^6$) fördern schwache, oft auch mittlere Cumarin-Konzentrationen das Wachstum aller Zonen. Cumarin $1:10^4$ fördert im Vergleich zu Cumarin $1:10^5$ auffallenderweise vor allem das Wachstum der *mittleren* Zone deutlich.

c) Im *Krümmungstest* ist Cumarin, allein gegeben, immer wirkungslos. In Kombination mit IES ($1:10^6$ und $1:10^5$) wirkt es unregelmäßig; mitunter fördern schwache bis mittlere Cumarin-Konzentrationen.

2. Es werden verschiedene Erklärungen für die Cumarinwirkungen diskutiert. Es ergeben sich Argumente gegen eine Cumarinwirkung:
durch Konkurrenz von Cumarin mit dem Wuchsstoff (Auxin) um Wirkorte oder Fehlstellen im Plasma,
durch Hemmung oder Förderung der Wuchsstoffaufnahme in die Zellen,
durch Förderung oder Hemmung der enzymatischen Wuchsstoffinaktivierung,
durch Hemmung oder Förderung der enzymatischen Wuchsstoffaktivierung,
durch Bildung eines Hemmstoffes aus Cumarin und Wuchsstoff und
durch Störung des Wuchsstofftransportes in der Pflanze durch Cumarin.

Sehr wahrscheinlich wirkt Cumarin wie ein Gift in starker Konzentration schädigend und daher hemmend auf das Wachstum, in schwacher dagegen stimulierend. Mit dem Wuchsstoffhaushalt besteht, abgesehen von einer unter bestimmten Bedingungen vielleicht vorhandenen mittelbaren Förderung der Wuchsstoffaktivierung, kein direkter Zusammenhang.

3. Die Wirkungen des Cumarins auf das Wachstum der Haferkoleoptile beruhen nicht auf einer Umwandlung in cis-Zimtsäure.

4. Im *Raphanus*-Hypokotyl ist sowohl eine basipetale als auch eine akropetale Leitung des Cumarins vorhanden. Dasselbe gilt wahrscheinlich auch für die Haferkoleoptile.

5. Die Ergebnisse von WINTER (1954) und HÖHN (1951) über die Wirkung von Cumarinpasten auf die Bildung von Stengelanschwellungen und die Hemmung der Seitentriebe an dekapitierten jungen Pflanzen werden bestätigt.

Herrn Prof. Dr. H. SÖDING, der mir das Thema stellte, sage ich herzlichen Dank für seine hilfreichen Ratschläge und Auskünfte. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für eine Beihilfe zu dieser Arbeit.

Literatur

AUDUS, L. J., and J. H. QUASTEL: Coumarin as a selective phytocidal agent. Nature (Lond.) **159**, 320—324 (1947).

AVERS, C. J., and R. H. GOODWIN: Studies on roots. IV. Effects of coumarin and scopoletin on the standard root growth pattern of *Phleum pratense*. Amer. J. Bot. **43**, 612—620 (1956).

BENTLEY, J. A.: The naturally-occurring auxins and inhibitors. Ann. Rev. Plant Physiol. **9**, 47—80 (1958).

BONNER, J., and R. S. BANDURSKI: Studies of the physiology, pharmacology, and biochemistry of the auxins. Ann. Rev. Plant Physiol. **3**, 59—86 (1952).

Burström, H.: Studies on growth and metabolism of roots. XI. The influence of auxin and coumarin derivatives on the cell wall. Physiol. Plantarum (Cph.) **7**, 548—559 (1954).

Goodwin, R. H., and C. Taves: The effect of coumarin derivatives on the growth of *Avena* roots. Amer. J. Bot. **37**, 224—231 (1950).

Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 36—39 (1951).

Höhn, K.: Untersuchungen über den Einfluß von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Entwicklung von Hypokotylknospen von *Linum usitatissimum* und die Kotyledonarknospen von *Vicia faba*. Planta (Berl.) **39**, 338—345 (1951).

Leopold, A. C.: Auxins and plant growth. Berkeley u. Los Angeles 1955.

Libbert, E.: Das Zusammenwirken von Wuchs- und Hemmstoffen bei der korrelativen Knospenhemmung. Planta (Berl.) **44**, 286—318 (1954).

Moewus, F.: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Kressewurzel. Biol. Zbl. **68**, 58—72 (1949).

Morgan, D. G., u. H. Söding: Über die Wirkungsweise von Phthalsäuremono-α-naphthylamid auf das Wachstum der Haferkoleoptile. Planta (Berl.) **52**, 235—249 (1958).

Schwarze, P., u. R. Hofschmidt: Die Umwandlung von Cumarsäure in Cumarinsäure und umgekehrt im ultravioletten Licht. Naturwissenschaften **46**, 205 bis 206 (1959).

Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart 1952.

Swain, T.: The identification of coumarin and related compounds by filter paper chromatography. Biochem. J. **53**, 200 (1953).

Thimann, K. V., and W. D. Bonner: The action of trijodobenzoic acid on growth. Plant Physiol. **23**, 158—161 (1948).

Thimann, K. V., and W. D. Bonner: Inhibition of plant growth by protoanemonin and coumarin, and its prevention by 1,2-dimercaptopropane. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **35**, 272—276 (1949).

Winter, H.: Der Einfluß von Wirkstoffen, von Röntgen- und Elektronenstrahlen auf die Cambiumtätigkeit von *Beta vulgaris*. Planta (Berl.) **44**, 636—668 (1954).

Zwar, J. A., and A. H. G. C. Rijven: Inhibition of transport of indole-3-acetic acid in the etiolated hypocotyl of *Phaseolus vulgaris* L. Aust. J. biol. Sci. **9**, 528—538 (1956).

Dr. E. Gantzer,
Staatsinstitut für Allgemeine Botanik, Hamburg 36, Jungiusstr. 6

Planta 55, 254—258 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

DIE ZYGOTROPISCHE REAKTION BEI MUCORINEEN

I. Mitteilung

Von

M. PLEMPEL

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 9. April 1960)

Die Endphase der Sexualreaktion bei Mucorineen — die Kopulation — verläuft so, daß (+) und (—) Gametangien (Zygophoren) sich treffen, an den Spitzen verschmelzen und durch beiderseitige Querwandbildung eine Zygote abschnüren. Sehr übersichtlich ist der Kopulationsvorgang bei *Mucor mucedo:*

Die Zygophoren entstehen in einer Kopulationszone entlang der Berührungsfläche zweier verschieden geschlechtlicher Mycelien. Der Abstand von (+) und (—) Gametangien beträgt durchschnittlich 1—3 mm. Kontakt zwischen (+) und (—) Gametangien wird durch beiderseitiges Krümmungswachstum hergestellt. Diese Fähigkeit zum gezielten Krümmungswachstum der Zygophoren hat BURGEFF Zygotropismus genannt und den Chemotropismen zugeordnet[2].

Die Ergebnisse einer früheren Arbeit[3, 6] machten wahrscheinlich, daß die chemotropische Reaktion der Zygophoren bei Mucorineen durch Wirkstoffe gesteuert wird, die im Substrat diffundieren.

Weiteren Untersuchungen wurde folgende Arbeitshypothese zugrunde gelegt: (+) und (—) Mycelien geben zygotropische Wirkstoffe in das Substrat ab, die radiär diffundieren. Dabei nimmt die Konzentration der Wirkstoffe mit der Entfernung vom Diffusionsmittelpunkt in einer Exponentialfunktion ab. Es resultiert also ein Wirkstoffgefälle an den — auf den Diffusionsort bezogenen — Vorder- und Rückseiten der $\sim 10\,\mu$ dicken Zygophoren. Dieser Konzentrationsgradient bestimmt die Richtung der Wachstumskrümmung auxinähnlich. Die einer höheren Wirkstoffkonzentration ausgesetzte Zygophoren-Vorderseite wird dabei im Wachstum gehemmt.

Zunächst hatten wir angenommen, daß die (+) und (—) Gamone, also dieselben Stoffe, die (+) und (—) Zygophorenbildung auslösen und die inzwischen kristallin in Form ihrer Benzoylester isoliert werden konnten[4–6], auch in der beschriebenen Weise zygotropisch wirksam seien, eine experimentelle Bestätigung dafür konnte aber nicht gefunden werden: Im Agar-Türmchentest[2] waren Konzentrationen von

0,1—1,25 γ reiner (±) Gamone pro Agartürmchen zygotropisch unwirksam.

Die Tests wurden so durchgeführt, daß an isolierten (+) und (—) Mycelien durch Zugabe von 0,25 γ (±) Gamon/cm³ Aqua dest. im

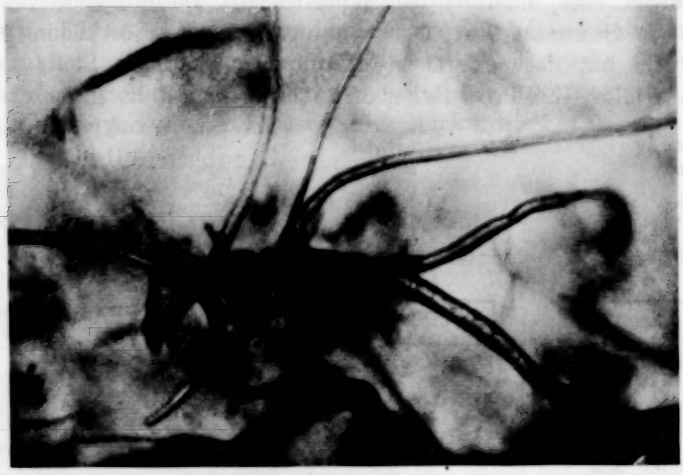


Abb. 1. Zygotropische Reaktion zwischen mehreren (+) und (—) Zygophoren von *Mucor mucedo*

Lochtestverfahren Zygophorenbildung ausgelöst wurde. Bei der angegebenen Gamonkonzentration entstehen im Testbereich ~20 (+) oder 30 (—) Zygophoren/cm² [4 u. 6]. 1 × 2 mm große Agarzylinder wurden mit steigender Konzentration von (±) Gamonen beladen und 1—2 mm neben einzelne (+) oder (—) Zygophoren gesetzt.

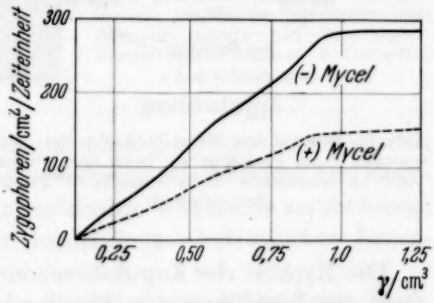


Abb. 2. Beschreibung s. Text

Bei positivem Verlauf des Tests hätte eine Krümmung der im Diffusionsradius der Agartürmchen stehenden Zygophoren auf diese zu erfolgen müssen. Neben Progamonen und Gamonen muß also im Sexualcyclus der Mucorineen zumindest ein weiterer — zygotropischer — Wirkstoff gefordert werden. Nach der für diese Untersuchung gültigen Arbeitshypothese muß dieser zygotropische Wirkstoff wasserlöslich sein und in das Substrat sezerniert werden.

Die im Durchlüftungsverfahren zur Gewinnung der Mucorineengamone[3] erhaltene Nährlösung enthält alle wasserlöslichen sekundären Stoffwechselprodukte der darin gezüchteten Mycelien, die auch normaler-

weise, d. h. im natürlichen Biotop, ins Substrat abgegeben werden. Im Türmchentest geprüft, war sie zygotropisch unwirksam. Damit kann der Zeitpunkt der Produktion und Exkretion zygotropischer Wirkstoffe innerhalb des Sexualcyclus der Mucorineen fixiert werden:

Während der Anzucht der Mycelien im Durchlüftungsverfahren werden die Sexualstadien der Progamon- und Gamonbildung durchlaufen. Da bis dahin keine zygotropisch wirksamen Stoffe gebildet werden, erfolgt ihre Produktion offenbar später, d. h. gleichzeitig mit der oder im Anschluß an die Zygophorenbildung.

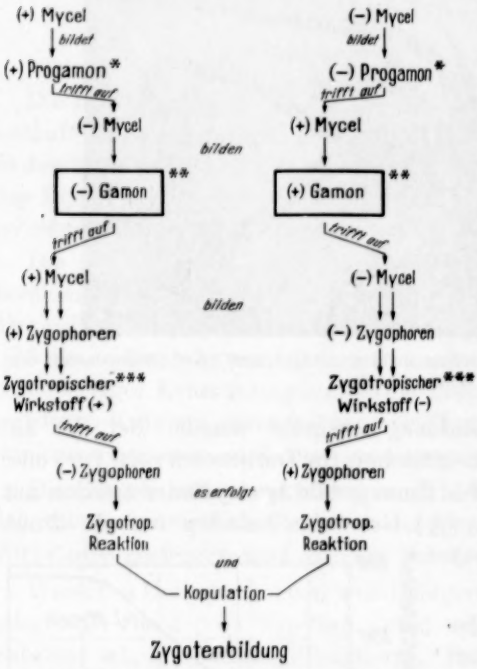


Abb. 3. Schema der Sexualreaktion bei *Mucor mucedo*. * Im biologischen Test nachgewiesen, ** in kristalliner Form isoliert, *** noch hypothetisch

Bei *Phycomyces blakesleeanus* weicht das Bild der Sexualreaktion von der bei *Mucor mucedo* bekannten Reaktionsfolge derart ab, daß zygogene und zygotropische Reaktionen zusammenfallen, d. h., erst im Moment der zygotropischen Kollision erheben sich die ineinander verknäulten (+) und (—) Gametangien über das Substrat, schwellen an und kopulieren in der bekannten Ösenform. Es werden also nie einzelne (+) und (—) Zygophoren sichtbar, da sie bis zur Berührung mit dem Sexualpartner *im* Substrat wachsen und kaum von normalen Hyphen unterscheidbar sind.

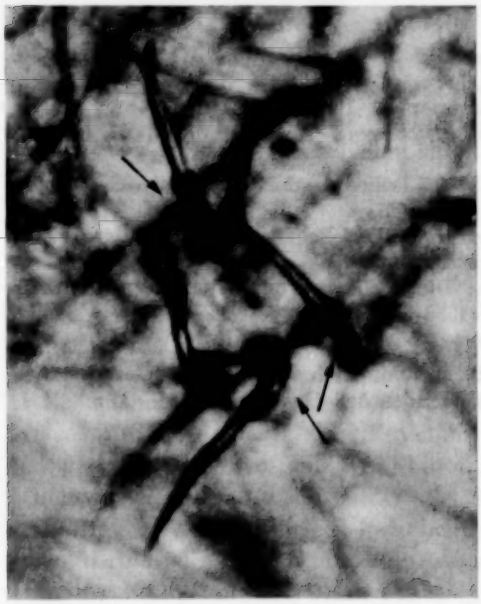
Kreuzt man *Mucor mucedo* (+) mit *Phycomyces blakesleeanus* (—) und umgekehrt, ist folgendes zu beobachten:

Die Hyphen der Kopulationszone färben sich gelborange, 8—10 Std nach der Berührung der Mycelien entstehen durch den *Phycomyces*-Gamonreiz die ersten *Mucor*-Zygophoren.

Nach 12—14 Std werden die *Mucor*-Zygophoren unten am Schaft von *Phycomyces*-Zygophoren umfaßt. Die Zygophoren von *Mucor* krümmen sich auf das Substrat zurück und kopulieren ihrerseits mit den um ihren Schaft geknäulten *Phycomyces*-Zygophoren oder mit denen am Fuß benachbarten *Mucor*-Zygophoren. Die Bildung von Zygoten unterbleibt. *Phycomyces*-Zygophoren entstehen nie zuerst,

ebenso können sie nie einzeln beobachtet werden. Nur an den Stellen, an denen schon *Mucor*-Zygophoren entstehen, werden diese von unten her von *Phycomyces*-Gametangien umfaßt:

Bei *Mucor mucedo* konnte bis jetzt experimentell noch keine völlige Klarheit bezüglich des Übertragungsmechanismus der zygotropisch wirksamen Stoffe geschaffen werden. Neben der Möglichkeit einer Substratinduktion des Zygotropismus durch diffundierende Stoffe, entsprechend unserer Arbeitshypothese, diskutiert BANBURY eine Steuerung der Zygophoren durch gasförmige Wirkstoffe[1].



a

b

Abb. 4. a Kreuzung *Mucor* × *Phycomyces*. Die *Mucor*-Zygophoren werden am Schaft von *Phycomyces*-Gametangien umfaßt. b Dasselbe, schematisch gezeichnet

Bei *Phycomyces blakesleeanus* scheint eine derartige Luftinduktion des Zygotropismus auf Grund des submersen Wachstums der Zygophorenanlagen ausgeschlossen. Hier gasförmige Wirkstoffe anzunehmen, würde die Hilfshypothese von über dem Substrat befindlichen Acceptoren notwendig machen.

Ebenso spricht die zygotropische Reaktion der *Phycomyces*-Zygophoren bei der Kreuzung mit *Mucor mucedo* zwingend für eine Substratinduktion des Zygotropismus.

Zusammenfassung

1. Neben Progamonen und Gamonen ist an der Sexualreaktion von *Mucor mucedo* zumindest 1 weiterer Wirkstoff beteiligt, der die Richtung der zygotropischen Wachstumsreaktion der Zygophoren bestimmt.

2. Die Exkretion dieses Wirkstoffes erfolgt erst nach der Entstehung der (+) und (—) Zygophoren.

3. Beobachtungen bei Kreuzungen zwischen (+) *Mucor* und (—) *Phycomyces* bzw. (—) *Mucor* und (+) *Phycomyces* machen sehr wahrscheinlich, daß die Übertragung dieses zygotropischen Wirkstoffes auf den Sexual-Partner durch Diffusion im Substrat erfolgt.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Fräulein I. KRÖNNER danke ich für exakte technische Assistenz, und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Hilfe.

Literatur

[1] BANBURY, G. H.: Physiological studies in the *Mucorales* III. J.exp. Bot. **6**, 235—274 (1954).

[2] BURGEFF, H.: Sexualität und Parasitismus. Bot. Abh. **4**, 4 (1926).

[3] PLEMPEL, M.: Die Sexualstoffe der *Mucoraceae*. Arch. Mikrobiol. **26**, 151—174 (1957).

[4] PLEMPEL, M., u. G. BRAUNITZER: Die Isolierung der Mucorineen-Gamone II. Z. Naturforsch. (im Druck).

[5] PLEMPEL, M.: Die Darstellung eines kristallinen Benzoesäure-Esters der Gamone von *Mucor mucedo*. Z. Naturforsch. (im Druck).

[6] PLEMPEL, M., u. G. BRAUNITZER: Die Isolierung der Mucorineen-Gamone I. Z. Naturforsch. **13b**, 302—305 (1958).

Dr. M. PLEMPEL, Botanisches Institut der Universität, Köln-Lindenthal, Gyrhofstraße 15—17

Planta 55, 259—273 (1960)

Aus dem Max Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln-Vogelsang,
Abteilung für Plasmavererbung

ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG VON NUCLEINSÄUREN*

Von
HARTMUT KERN

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. April 1960)

Bei vergleichend biochemischen Untersuchungen an den „löslichen" Blatteiweißstoffen von Pflanzen der Gattung *Epilobium*, die in ihrem plasmatischen Erbgut verschieden sind (MICHAELIS 1954), ergab sich die Notwendigkeit, die betreffenden Proteinpräparate chemisch zu charakterisieren. Die bei den Versuchsbedingungen in Lösung gehenden Eiweißkörper lassen sich auf Grund ihres Gehaltes an Nucleinsäuren klassifizieren. Untersuchungen von WILDMAN und BONNER (1947), SINGER, EGGMAN, CAMPBELL und WILDMAN (1952), EGGMAN, SINGER und WILDMAN (1953), PIRIE (1950) u. a. haben ergeben, daß ein hoher Prozentsatz der in wäßrigen Medien löslichen Blatteiweißstoffe Ribonucleinsäure (RNS) enthält. Nach Ansicht dieser Autoren handelt es sich hierbei um Nucleoproteide. Diese als „Fraktion I" bezeichneten nucleinsäurehaltigen Eiweißkörper sind offenbar im Pflanzenreich weit verbreitet (DORNER, KAHN und WILDMAN 1958). Das Mengenverhältnis von „Fraktion I" zu den übrigen löslichen Proteinen ist variabel und weitgehend abhängig vom Entwicklungszustand der Blätter (PIRIE 1950, DORNER, KAHN und WILDMAN 1957). Um eine Basis für den Vergleich der Proteinpräparate aus Blättern verschiedener *Epilobium*-Plasmotypen (MICHAELIS 1954) mit unterschiedlichen physiologischen Zuständen zu haben, erschien es daher sinnvoll, in den Blattextrakten das Verhältnis Nucleinsäure/Protein quantitativ zu bestimmen. Über die dabei gemachten Erfahrungen, die von allgemeinem Interesse sein dürften, soll hier berichtet werden.

Unter Anwendung bekannter Bestimmungsmethoden sollten auf möglichst einfache Weise quantitative Nucleinsäure- und Proteinbestimmungen durchgeführt werden. Im Prinzip war beabsichtigt, die in den Blattextrakten nach hochtouriger Zentrifugierung vorhandenen Eiweißkörper mit kalter Trichloressigsäure (TCE) auszufällen, aus diesem Niederschlag die Nucleinsäuren (NS) zu extrahieren, quantitativ zu bestimmen und den Extraktionsrückstand einer Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL zur Erfassung des Proteinstickstoffes zu unterwerfen. Bei dieser Behandlung werden die erwähnten Nucleoproteide gemeinsam mit den anderen

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Eiweißkörpern ausgefällt. Unter der Voraussetzung, daß es sich bei den NS-haltigen Eiweißstoffen um native Verbindungen mit einem konstanten Verhältnis von NS/Proteinstickstoff (Protein-N) handelt, müßte in der quantitativen Bestimmung des Protein-N der ausgefällten Eiweißkörper und der im Niederschlag vorhandenen Nucleinsäure das variable Verhältnis von „Fraktion I" (s. oben) zu den übrigen Eiweißkörpern zum Ausdruck kommen. Die NS-Bestimmung sollte in Anlehnung an die von OGUR und ROSEN (1950) entwickelte Methode erfolgen. Hierbei wird das betreffende Material durch Behandlung mit Äthanol, Äther und verdünnter Perchlorsäure (0,2 molar) soweit gereinigt, daß die anschließende Extraktion der Nucleinsäuren mit Perchlorsäure (0,5 bzw. 1 molar) Lösungen ergibt, die weitgehend frei von Stoffen sind, die die UV-Absorption der NS stören (vgl. KERN 1959b).

Nucleinsäuren zeichnen sich aus durch typische Absorptionsspektren im ultravioletten Bereich mit einem Maximum bei 260 mμ und einem Minimum bei 232—235 mμ. Auf dieser Eigenschaft basieren NS-Bestimmungsmethoden, wobei aus Extinktionsmessungen bei der Wellenlänge 260 mμ (E_{260}) unter Benutzung einer Eichkurve, die von einer Testnucleinsäure angefertigt wird, auf den jeweiligen Gehalt an NS geschlossen wird. Diese Möglichkeit einer spektroskopischen Bestimmung sollte geprüft werden. Bei der im vorliegenden Falle notwendigen Abwandlung der Methode von OGUR und ROSEN wurde zunächst untersucht, wieweit sie sich vereinfachen ließ. So konnte z. B. angenommen werden, daß die Fällung des Eiweißmaterials mit Trichloressigsäure die in der Originalmethode vorgeschriebene Extraktion mit 0,2 molarer Perchlorsäure (s. oben) erübrige und höchstens eine Lipoidextraktion mit Äther-Äthanol notwendig sei.

Im folgenden Beispiel wurde gleiches mit Trichloressigsäure gefälltes Material in verschiedener Weise aufgearbeitet und dann analysiert. Hierbei wurden Fehlerquellen aufgedeckt, die besonders bei Nucleinsäurebestimmungen auf der Basis von E_{260}-Messungen entstehen können.

Methode

Blätter von *Epilobium parviflorum* werden mit kalter 0,01 molarer Natriumtetraborat-Lösung unter Zusatz von Coffeinum anhydricum zur Bindung der Gerbstoffe (KERN 1959c) homogenisiert. Diese Suspension wird durch ein Leinentuch geseiht und anschließend 15 min bei 40000 g in der Kühlzentrifuge (Christ „Universal Rapid") zentrifugiert. Aliquote Teile der klaren, gelblichen Lösung werden mit gleichen Volumina kalter 20%iger TCE unter gründlichem Rühren versetzt. Nach 30 min Aufbewahrung im Kühlschrank wird der Niederschlag abzentrifugiert und zweimal mit kalter 1%iger TCE nachgewaschen.

Solche vom gleichen Blattmaterial gewonnenen Niederschläge werden unterschiedlichen Behandlungen unterworfen:

a) Extraktion mit 0,5 molarer Perchlorsäure, 30 min bei 70° C; Rückstand wird nochmals 10 min in gleicher Weise behandelt. Die Extrakte werden vereinigt und quantitativ in ein 25 ml Meßkölbchen übergeführt. Von diesen Extrakten werden Absorptionsspektren im Spektralbereich 220—300 mμ aufgenommen (Abb. 1 *a*). Die Werte der Extinktionsmessungen bei 260 mμ werden an Hand einer Eichkurve (RNS aus Hefe, Merck) in RNS-Mengenangaben übergeführt. Parallel hierzu wird

der Phosphorgehalt dieser Lösungen nach der Methode von BERENBLUM und CHAIN (1938) bestimmt, nachdem vorher eingeengt und mit 70%iger Perchlorsäure naß verascht wurde (Nucleinsäure-Phosphor, NS-P).

Nach erfolgter Perchlorsäureextraktion wird der Rückstand mit konzentrierter Schwefelsäure bei Gegenwart eines Katalysators (Kaliumsulfat und Kupfersulfat) verascht und einer Stickstoffbestimmung nach KJELDAHL unterworfen. Durch Multiplikation der jeweils festgestellten Stickstoffmengen mit dem gebräuchlichen Faktor 6,25 läßt sich der Proteingehalt größenordnungsmäßig berechnen.

b) Der TCE-Niederschlag wird zweimal mit Äther-Äthanol (1:3 *v/v*) je 5 min heiß extrahiert, mit kaltem 96%igem Äthanol nachgewaschen und dann wie unter a) weiterbehandelt. Das UV-Spektrum der Perchlorsäureextrakte ist in Abb. 1*b* wiedergegeben.

c) Der TCE-Niederschlag wird zweimal mit kalter 0,2 molarer Perchlorsäure in 50%igem Äthanol behandelt und anschließend wie unter b und a beschrieben aufgearbeitet. Die entsprechende Absorptionskurve des Perchlorsäureextraktes ist in Abb. 1*c* wiedergegeben.

Zusammenfassend sind in folgender Übersicht die bei den einzelnen Präparaten durchgeführten Aufarbeitungen (+) in ihrer Reihenfolge wiedergegeben:

Aufarbeitung	a	b	c
0,2 mol. $HClO_4$ in 50%igem Äthanol	—	—	+
Äther-Äthanol 1 : 3 *v/v*	—	+	+
0,5 mol. $HClO_4$ 70° C	+	+	+

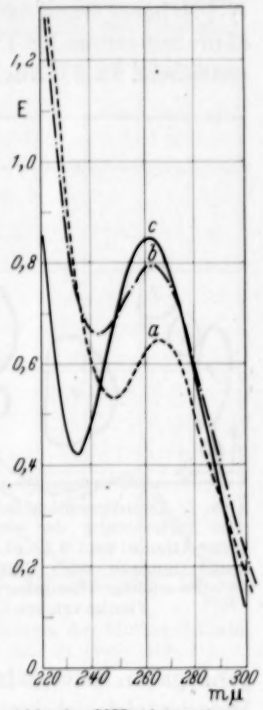


Abb. 1. UV-Absorptionsspektren der Perchlorsäureextrakte aus den Präparaten a—c

Vergleicht man die einzelnen Absorptionsspektren miteinander, so läßt sich bei den Aufarbeitungen a und b eine Verschiebung der Maxima bis 265 mμ gegenüber 260 mμ bei reiner Nucleinsäure und der Minima bis 245 mμ gegenüber 232—235 mμ bei reiner Nucleinsäure feststellen. Bei Präparat c dagegen liegt das Maximum bei 260 mμ und das Minimum bei 235 mμ. Demnach käme von den 3 Präparaten nur Präparat c für quantitative spektroskopische NS-Bestimmung in Frage. In der folgenden Tabelle sind die Analysenergebnisse an den einzelnen Präparaten zusammengestellt:

Tabelle 1

Präparat	Protein-N γ	NS-P γ	RNS-Gehalt γ		NS-P / $RNS_{E_{260}}$	NS-P / Protein-N
			1 γ P = 12,5 γ NS	E_{260} (Hefe-NS)		
a	3329	17,0	212,5	5220	1 : 307	1 : 195,8
b	2980	15,5	193,75	1480	1 : 95,5	1 : 192,2
c	1993,4	28,4	354,4	522,6	1 : 18,4	1 : 70,2

Zur Erklärung der angeführten Analysenwerte: Mit Protein-N wird der nach Extraktion der Nucleinsäure mit heißer 0,5 molarer Perchlorsäure (s. oben) im Rückstand nach der Kjeldahl-Methode ermittelte Stickstoffgehalt bezeichnet. Unter NS-P wird der in den Perchlorsäureextrakten vorhandene Phosphor verstanden. In der mit „RNS-Gehalt" überschriebenen Spalte sind links die aus den NS-P-Werten errechneten NS-Mengen angegebenen. Für diese Berechnungen wurde eine Nucleinsäure mit einem NS-P-Gehalt von 8% zugrunde gelegt, d. h. 1 γ Phosphor entspricht 12,5 γ Nucleinsäure. Rechts daneben sind die auf Grund von Extinktionsmessungen bei der Wellenlänge 260 mμ (E_{260}) aus einer Eichkurve (Hefe-RNS) ermittelten NS-Mengen angeführt. In den folgenden Spalten wird das Verhältnis von NS-P zu der aus E_{260}-Messungen ermittelten RNS ($RNS_{E_{260}}$) bzw. NS-P zu Eiweißstickstoff gebildet.

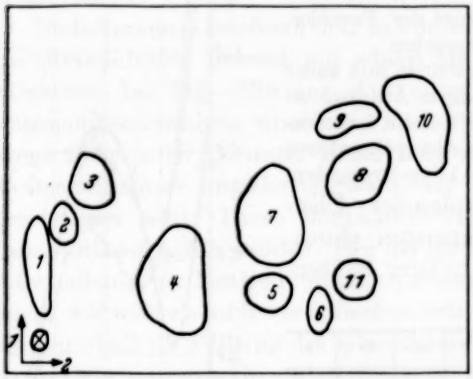


Abb. 2. Zweidimensionale papierchromatographische Auftrennung der vereinigten Extrakte mit Äther-Äthanol und 0,2 mol. Perchlorsäure. 1. Richtung: Gemisch nach PARTRIDGE; 2. Richtung: 60%ige wäßrige Essigsäure. Die Markierung der Flecke erfolgte im UV-Licht

Die wichtigste Feststellung, die man beim Vergleich der Analysenwerte treffen kann, ist die Tatsache, daß bei den Präparaten a und b die E_{260}-Werte und damit die darauf basierenden NS-Mengenangaben unverhältnismäßig hoch gegenüber den NS-P-Werten sind. Dies ist ein sicheres Zeichen dafür, daß die hohe UV-Absorption der Perchlorsäureextrakte bei den Präparaten a und b durch die Anwesenheit phosphorfreier bzw. -armer und sicherlich nicht von Nucleinsäuren herrührenden Substanzen bedingt ist.

Um Anhaltspunkte über die Natur dieser die spektroskopische Bestimmung der Nucleinsäuren störenden Stoffe zu bekommen, wurden die im Präparationsgang c anfallenden Extrakte mit 0,2 molarer Perchlorsäure und Äther-Äthanol (s. oben) vereinigt und papierchromatographisch untersucht.

Zu diesem Zweck wurden diese Extrakte im Vakuum eingeengt und zweidimensional getrennt. Auf Schleicher und Schüll 2043b wurde im aufsteigenden Verfahren in der ersten Richtung mit dem Gemisch Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 (v/v) und in der zweiten mit 60%iger wäßriger Essigsäure gearbeitet. Auf den Chromatogrammen (Abb. 2) ließen sich bis 11 Flecke feststellen, die im UV-Licht (Quarzbrenner mit Emissionsschwerpunkt bei 254 mμ) gelblich-weiß, bläulich und blauweiß fluorescieren. Sie wurden aus den Chromatogrammen ausgeschnitten und

mit Methanol eluiert. Von diesen Extrakten wurden gegen entsprechende Vergleichslösungen UV-Absorptionsspektren aufgenommen. Die aus den Flecken 4 bis 9 eluierten Substanzen zeigen ähnliche Spektren. In Abb. 3 sind die Absorptionskurven der Eluate aus Fleck 7 und 8 wiedergegeben. Die Minima der Kurven liegen zwischen 230 und 235 mμ und die Maxima bei 258 mμ, außerdem läßt sich bei 360 mμ ein zweites Maximum feststellen. Das Eluat von Fleck 11 dagegen hat ein hiervon stark abweichendes Spektrum, während die Eluate der übrigen Flecke keine ausgeprägte UV-Absorption aufweisen. Die Fluorescenz der Flecken auf dem Papier, deren Intensitätssteigerung nach Ammoniakbedampfung und der Umschlag der Fluorescenzfarbe nach Besprühen mit Berylliumnitrat- oder Aluminiumchloridlösung (s. LINSKENS 1959) sind deutliche Hinweise dafür, daß es sich bei den meisten dieser Substanzen um Flavonoide (Definition vgl. HÄNSEL 1959) handelt. Wie zu erwarten, fiel der Phosphornachweis nach der Methode von HANES und ISHERWOOD (1949) auf diesen Chromatogrammen nur sehr schwach aus.

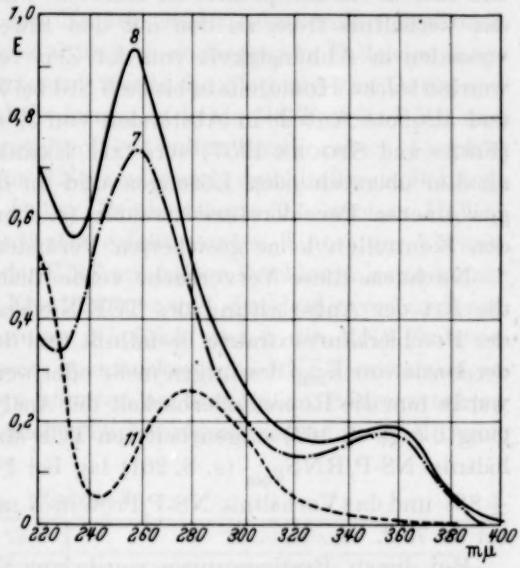


Abb. 3. UV-Absorptionsspektren der Methanoleluate aus den Flecken 7, 8 und 11 (vgl. Abb. 2)

Wenngleich sich durch die Gegenwart dieser Stoffe die starke UV-Absorption der Perchlorsäureextrakte aus den TCE-Präparaten a und b (s. oben) erklären läßt, bleibt doch die Frage offen, wodurch die Verschiebung der Absorptionskurven (vgl. Abb. 1) dieser Extrakte in den längerwelligen Bereich hervorgerufen wird. Da reine Nucleinsäure und die hier beschriebenen Störstoffe sich in ihrer UV-Absorption ähneln, ist diese Verschiebung überraschend. Auch die Behandlung mit heißer 0,5 molarer Perchlorsäure, wie sie zur Extraktion der Nucleinsäuren benutzt wird, führt zu keiner Änderung im Absorptionsverhalten dieser Störstoffe. Dies konnte an solchen Lösungen gezeigt werden, wie sie für die eben beschriebenen papierchromatographischen Analysen verwendet wurden.

Die bisher angeführten Untersuchungen lassen eine relativ feste Bindung der Flavonoide an die mit Trichloressigsäure fällbaren Stoffe erkennen. Wenngleich nichts über die Art dieser Bindung ausgesagt werden kann, so lassen sich doch auf spektroskopischem Wege Hinweise dafür erlangen, daß diese Störstoffe auch frei — also nach Ausfällung der Eiweißkörper in Lösung bleibend — vorliegen können. Wurden nämlich Blatthomogenate, die im Gegensatz zu den üblichen (vg. S. 260)

kein Coffein enthielten, mit dem von FIERS und STOCKX (1957) angegebenen Eiweiß und Nucleinsäurefällungsmittel versetzt, so ließen sich ähnliche UV-Absorptionsspektren nach erfolgter Fällung im Überstehenden wie im Perchlorsäureextrakt (0,5 molare $HClO_4$, 70° C) aus dem Niederschlag feststellen. Es erhob sich die Frage, ob enzymatische Vorgänge dafür verantwortlich gemacht werden können, daß die Flavonoide in teils freier und in teils fällbarer Form vorliegen. Um hierfür Anhaltspunkte zu erhalten, wurde deshalb geprüft, ob sich das Verhältnis freier zu den mit den Eiweißkörpern ausfällbaren Flavonoiden in Abhängigkeit von der Zeit verändert. Zu diesem Zweck wurden solche Homogenate bis zu 5 Std bei Zimmertemperatur inkubiert und aliquote Anteile in Abständen von 30 min mit dem Fällungsmittel (FIERS und STOCKX 1957) versetzt. Extinktionsmessungen bei 260 mμ an den überstehenden Lösungen und an den aus den Niederschlägen gewonnenen Perchlorsäureextrakten (s. oben) zeigten jedoch gegenüber den Kontrollen keine gesicherten Veränderungen.

Nachdem diese Vorversuche verdeutlicht haben, in welchem Maße die Art der Aufarbeitung des TCE-Niederschlages die UV-Absorption der Perchlorsäureextrakte beeinflußt und damit NS-Bestimmungen auf der Basis von E_{260}-Messungen mehr oder weniger fehlerhaft werden läßt, wurde nun die Reproduzierbarkeit der Analysen des nach Präparationsgang c (vgl. S. 261) aufgearbeiteten TCE-Materials überprüft. Das Verhältnis NS-P/$RNS_{E\,260}$ (s. S. 261) lag bei 1:18,7 mit einem Fehler von ±8% und das Verhältnis NS-P/Protein-N mit einem Fehler von ±9,5% bei 1 : 73,2.

Bei diesen Bestimmungen wurde zur Vereinfachung angenommen, daß es sich bei der in den TCE-Niederschlägen vorkommenden NS ausschließlich um RNS handelt. Tatsächlich jedoch läßt durch Anwendung der Diphenylaminreaktion (BURTON 1956) in den Perchlorsäureextrakten auch DNS (Desoxyribonucleinsäure) nachweisen. Der DNS-Gehalt betrug etwa 5% der durch Phosphorbestimmungen (s. S. 261) errechneten Gesamt-NS. Auch bei Berücksichtigung dieser Tatsache ergeben Überschlagsrechnungen in jedem Falle einen zu geringen NS-P-Gehalt, als er aus den E_{260}-Messungen zu erwarten wäre. Aus den in der obigen Tabelle 1 (S. 261) bei Präparat c angeführten Werten errechnet sich ein NS-P-Gehalt von 5,7%, wenn auf Hefe-NS (Eichkurve) bezogen wird. Der Phosphorgehalt vieler Nucleinsäuren unterschiedlicher Herkunft liegt zwischen 8 und 10%. Da — wie später gezeigt wird — auch die hier vorliegenden Nucleinsäuren hiervon keine Ausnahme machen, liegt die Vermutung nahe, daß an der UV-Absorption der NS-haltigen Perchlorsäureextrakte noch andere Nicht-NS-Stoffe beteiligt sind. So ist anzunehmen, daß bei der NS-Extraktion mit heißer Perchlorsäure auch eine teilweise Hydrolyse der Eiweißkörper erfolgt. Tatsächlich konnten

in diesen Extrakten nach papierchromatographischer Trennung (Rundchromatogramme, Lösungsmittel nach PARTRIDGE 1948) bis sieben ninhydrinpositive Substanzen nachgewiesen werden. Da sich auch nach vorangegangener Hydrolyse mit 6 molarer Salzsäure (10 Std bei 105° C) die Anzahl dieser Stoffe nicht änderte, kann es sich hierbei um Aminosäuren — also um Spaltprodukte von Eiweißsubstanzen — handeln.

Zur Umgehung dieser Schwierigkeiten wäre eine für die Eiweißkörper schonendere NS-Extraktion angebracht. Da jedoch von den zahlreichen zur Gewinnung von Nucleinsäuren bestehenden Methoden die meisten nicht quantitativ sind und im vorliegenden Falle eine möglichst einfache wünschenswert war, wurde die Methode von OGUR und ROSEN in bezug auf die Fraktionierung in beide NS-Typen, RNS und DNS, erneut überprüft. Demnach soll mit kalter Perchlorsäure (1 molare $HClO_4$, 18 Std bei +4° C) nur RNS und durch anschließende Behandlung des Rückstandes mit heißer Perchlorsäure (0,5 molare $HClO_4$, 20 min bei 70° C) DNS quantitativ erfaßt werden. Unter der Voraussetzung, daß die Extraktion der RNS mit kalter Perchlorsäure zu keiner wesentlichen Hydrolyse der Eiweißkörper und den damit verbundenen Störungen der UV-Absorption der NS führt und 2. die RNS-Fraktion selbst quantitativ erfolgt, wären spektroskopische RNS-Bestimmungen möglich. DNS-Bestimmungen könnten an den heißen Säureextrakten durch Anwendung der empfindlichen Diphenylaminreaktion nach BURTON (1956) colorimetrisch erfolgen.

Tabelle 2

	DNS-Test	RNS-Test	TCE-Präparat		
	0,5 mol. PCS heiß	1 mol. PCS kalt	1 mol. PCS kalt	1 mol. PCS heiß	0,5 mol. PCS heiß
E_{260}/E_{232}	2,40	3,03	2,33	1,36	1,57
E_{260}/E_{235}	2,17	2,70	2,27	1,45	1,65

Bezüglich der ersten Forderung ließ sich spektroskopisch zeigen, daß mit kalter Perchlorsäure die NS in reinerer Form als bei heißer Extraktion gewonnen wird. Als Kriterium für den Reinheitsgrad der Lösungen diente der Quotient aus den Extinktionen im Absorptionsmaximum und -minimum reiner NS. Da das Minimum zwischen 232 und 235 mμ schwankte, wurden die Quotienten E_{260}/E_{232} und E_{260}/E_{235} der betreffenden Lösungen gebildet und mit denen von in gleicher Weise behandelten Test-NS-Lösungen verglichen. In der obigen Übersicht sind die Mittelwerte von je 6 Lösungen zusammengestellt. Als Test-NS dienten DNS aus Sperma (Bayer) und RNS aus Hefe (Merck). Bei den angegebenen Konzentrationen an Perchlorsäure (PCS) wird unter der Bezeichnung „heiß" die Extraktion bei 70° C (30 min) und unter „kalt" die bei +4° C (18 Std) verstanden.

Der Anstieg des Quotienten E_{260}/E_{235} von 1,65 bei heißer auf 2,27 bei kalter Perchlorsäureextraktion ist ein eindeutiger Beweis für den größeren Reinheitsgrad der so gewonnenen NS. In diesem Zusammenhang ist die Feststellung wichtig, daß der Phosphorgehalt des kalten Perchlorsäureextraktes ansteigt. Auf der Basis von E_{260}-Messungen bezogen auf Hefe-RNS (s. oben) errechnet sich in diesem Falle ein NS-P-Gehalt von 8,1% gegenüber 5,7% bei Extraktion mit heißer Perchlorsäure (s. oben). Auch durch papierchromatographische Analysen der kalten Säureextrakte ließen sich ninhydrinpositive Substanzen nur in sehr geringer Konzentration (vgl. S. 265) nachweisen. Somit kann dieser Befund als Erklärung für den größeren spektroskopischen Reinheitsgrad dieser NS-Lösungen angesehen werden.

Wenngleich diese Ergebnisse für die Anwendbarkeit dieser NS-Extraktionsmethode sprechen, so mußte jedoch noch die zweite Forderung, nämlich die Vollständigkeit der RNS-Extraktion, erfüllt sein. Zur Prüfung dieser Frage wurde die basische Hydrolyse angewandt. Bekanntlich verhalten sich beide NS-Typen bei Behandlung mit Basen unterschiedlich. RNS wird bei basischer Hydrolyse (1 molare Kalilauge, 18 Std bei 37° C) in ihre Mononucleotide gespalten, DNS dagegen bleibt makromolekular und fällt bei Ansäuerung des Hydrolysates im Gegensatz zu den RNS-Spaltprodukten aus. Auf diesen Eigenschaften der NS basiert die von SCHMIDT und THANNHAUSER (1945) entwickelte Methode. Setzt man nun die Vollständigkeit der RNS-Extraktion durch kalte Perchlorsäure voraus und unterwirft man den Rückstand einer basischen Hydrolyse, so dürften nach Ausfällung der DNS in der säurelöslichen Fraktion keine RNS-Spaltprodukte mehr vorhanden sein. Im einzelnen wurde folgendermaßen vorgegangen:

Das aufgearbeitete TCE-Material (Präparat c vgl. S. 261) wurde gemäß der Vorschrift von OGUR und ROSEN mit 1 molarer Perchlorsäure (18 Std bei +4° C) behandelt, dabei öfter umgeschüttelt und schließlich abzentrifugiert. Der Rückstand wurde 4mal mit kalter Perchlorsäure nachgewaschen und dann mit 1 molarer Kalilauge (18 Std bei 37° C) hydrolysiert. Nach Zentrifugation wurde die braune Lösung mit TCE und 6 normaler Schwefelsäure angesäuert. Nach 2 Std wurde der weiße Niederschlag (DNS, Protein u. a.) hochtourig (40000 g) abzentrifugiert. Die klare, leicht gelbliche Lösung wurde mit $^1/_{10}$ des Volumens mit 10 normaler Schwefelsäure versetzt und dann 2 Std im siedenden Wasserbad erhitzt (vgl. COX 1957). Bei dieser Hydrolyse werden die Purine (Adenin, Guanin) der säurelöslichen RNS-Mononucleotide frei, während die Pyrimidine (Uracil, Cytosin) weiter als Uridyl- bzw. Cytidylsäure vorliegen. Dieses Hydrolysat wurde anschließend mit Wasser 1:1 verdünnt. Aliquote Teile dieser Lösung wurden mit 0,02 ihres Volumens mit 1 molarer Silbernitratlösung versetzt. Die sich sofort trübende Lösung wurde 10 min im siedenden Wasserbad erhitzt und über Nacht im Kühlschrank aufbebewahrt. Der Niederschlag der Purin-Silbersalze wurde abzentrifugiert und mit angesäuertem Methanol (0,25 normale Schwefelsäure in 50%igem Methanol) gewaschen. Aus diesem Sediment wurden mit heißer 0,1 molarer Salzsäure die Purine wieder herausgelöst.

Die UV-Absorptionsspektren solcher Extrakte zeigten in jedem Falle den in Abb. 4 wiedergegebenen Verlauf. Sie stellen die Resultante der Einzelabsorptionen von Adenin und Guanin dar. Gleiche Kurven ergaben sich bei Anwendung dieses Analysenganges auf Hefe-RNS. Diesen Nachweis der Purine kann man — die vollständige Ausfällung der DNS vorausgesetzt — als Beweis für die unvollständige Extraktion der RNS bei den angegebenen Bedingungen werten. Dieses Versuchsergebnis bestärkt die von verschiedenen Autoren ausgesprochene Skepsis über die verläßliche Trennung beider NS-Typen auf dem von Ogur und Rosen vorgeschlagenen Wege.

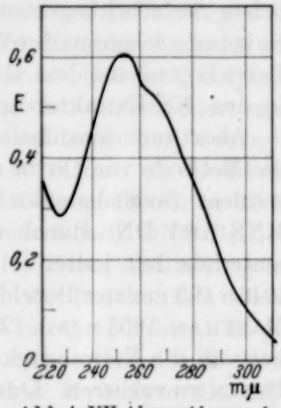


Abb. 4. UV-Absorptionsspektrum eines HCl-Extraktes aus dem Silbersalzniederschlag (Adenin, Guanin) der RNS-Fraktion

In Anbetracht dieser Schwierigkeiten, die quantitative NS-Bestimmungen auf der Basis von E_{260}-Messungen unsicher machen, wurden im vorliegenden Falle die erforderlichen Bestimmungen an TCE-Material (s. S. 261) nach dem Analysengang, wie er im folgenden Schema unter A angegeben ist, durchgeführt. Hierbei dienten E_{260}-Messungen nur als Anhaltspunkt für die Abschätzung der jeweiligen NS-Konzentration, während die Phosphorbestimmungen (NS-P) und die Intensität der Diphenylaminreaktion (Burton 1956) den quantitativen Bestimmungen der Nucleinsäuren zugrunde gelegt wurden.

Diskussion

Bei quantitativen Bestimmungen von Nucleinsäuren muß berücksichtigt werden, daß diese Stoffe hochmolekularer Natur sind und in komplexer Bindung an Eiweißkörper, Lipoide usw. vorliegen können. Quantitative Extraktionen schließen demnach die Möglichkeit ein, daß sich hierbei die physikalisch-chemischen Eigenschaften der NS — z. B. durch partielle Hydrolyse, Depolymerisation — verändern und außerdem auch andersartige Stoffe in Lösung gehen, die — wie gezeigt wurde — die quantitativen Bestimmungen empfindlich stören können. Die beschriebenen Untersuchungen haben erkennen lassen, daß sich vollständige NS-Extraktion und spektroskopische Reinheit der betreffenden Extrakte nicht immer in gleichem Maße erreichen lassen. Es soll hier jedoch nicht nur der Eindruck entstehen, als wäre die Methode von Ogur und Rosen grundsätzlich abzulehnen. Vielmehr sollen hier nur die Grenzen dieser Methode aufgezeigt und eindringlich davor gewarnt werden, sie kritiklos auf beliebige Objekte anzuwenden. So muß den Störstoffen, die von Objekt zu Objekt verschieden sein können, ein

besonderes Augenmerk geschenkt werden. Hinweise für solche Stoffe können spektroskopische Kontrollen der einzelnen Aufarbeitungsstufen geben. Wie wichtig die Berücksichtigung des Gesamtverlaufes der betreffenden UV-Absorptionskurven, besonders die Lage des Absorptionsmaximums und -minimums ist, wurde beim Vergleich der unterschiedlichen Aufarbeitungsstufen des gleichen Materials (vgl. S. 260) gezeigt. So konnte schon aus der Verschiebung des Spektrums in den längerwelligen Bereich und aus den Quotienten E_{260}/E_{235} und E_{260}/E_{232} auf Störstoffe in den NS-Extrakten geschlossen werden.

Aber auch hinsichtlich der Vollständigkeit der NS-Extraktion darf die Methode von OGUR und ROSEN nicht als allgemeingültig angesehen werden. So sind starke Bedenken aufgetaucht an der Fraktionierung in RNS und DNS durch aufeinanderfolgende Extraktion des Analysenmaterials mit kalter 1 molarer Perchlorsäure (RNS-Extraktion) und heißer 0,5 molarer Perchlorsäure (vgl. DI STEFANO 1952, HEILINGER 1954, MARKHAM 1955 u. a.). Zumindest bei der Analyse von grünen Blättern hat sich die Notwendigkeit ergeben, die Originalmethode von OGUR und ROSEN zu variieren. Durch Änderung der Temperatur und Verlängerung der Extraktionszeit wird in den Untersuchungen von HOLDEN (1952), BÖTTCHER und WOLLGIEHN (1958) und GULICH (1960) die vollständige Abtrennung der RNS von der DNS angestrebt. Selbst wenn diese NS-Fraktionierung bei den betreffenden Objekten gewährleistet ist und durch die für die Extraktion der RNS notwendige lange Einwirkung der Perchlorsäure die DNS unverändert bleibt, so erhebt sich die Frage, ob die z. B. zur Analyse von Blattmaterial erarbeitete Variation der Methode von OGUR und ROSEN auch auf die anderen Organe derselben Pflanze angewendet werden darf.

Aber auch hinsichtlich der Vollständigkeit der NS-Extraktion darf die von OGUR und ROSEN vorgeschriebene Behandlung des Untersuchungsmaterials mit heißer 0,5 molarer Perchlorsäure nicht als allgemeingültig angesehen werden. Wenngleich diese im vorliegenden Falle ausreichte, muß doch auf Befunde hingewiesen werden, die dieser Auffassung widersprechen (KERN 1956, 1959a, b; CHIBA und SUGAHARA 1957; LORENZEN und RUPPEL 1960).

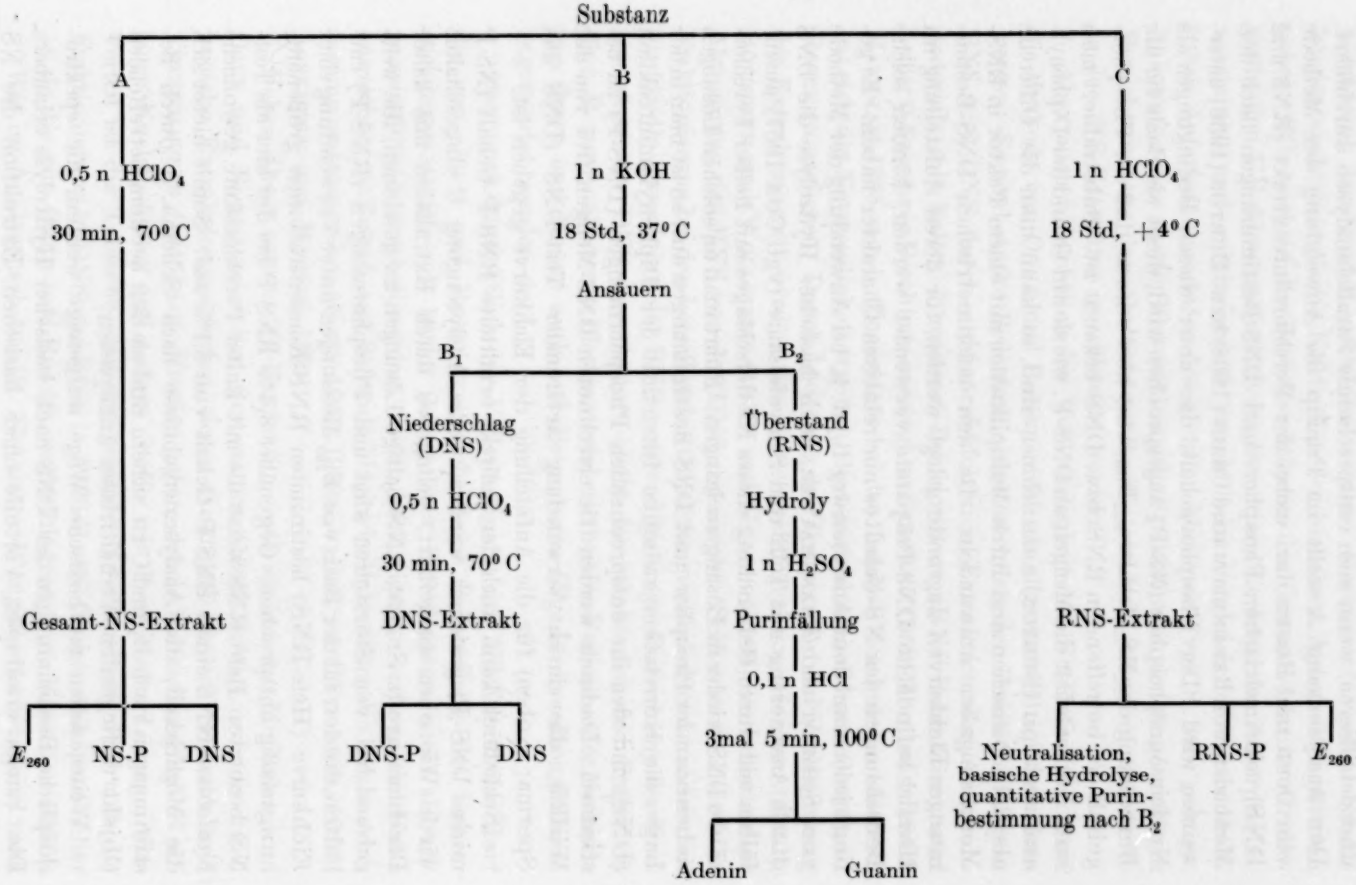
Neben dieser sauren NS-Extraktion, wie sie bei den Methoden von OGUR und ROSEN oder von SCHNEIDER (1945) erfolgt, gibt es auch basische Extraktionsmethoden, deren wichtigste die von SCHMIDT und THANNHAUSER (1945) ist. Hierbei gehen durch Behandlung mit Kalilauge Nucleinsäuren und andere Stoffe wie Proteine in Lösung. Von Vorteil ist die Tatsache, daß die gesamte NS extrahiert wird und die Fraktionierung in DNS und RNS (s. S. 266) verläßlicher und spezifischer ist als die von OGUR und ROSEN vorgeschlagene (vgl. MARKHAM 1955).

Wie im Analysenschema (S. 270) unter B angedeutet ist, kann man die NS-Bestimmung an den Perchlorsäureextrakten (A) sinnvoll sichern

und detaillieren, wenn man entsprechende Parallelanalysen durchführt. Der Analysengang A stellt im Prinzip die Anwendung der Methode von OGUR und ROSEN dar, wobei der Perchlorsäureextrakt (RNS und DNS) colorimetrischen Phosphor- und DNS-Bestimmungen nach den Methoden von BERENBLUM und CHAIN (1938) bzw. BURTON (1956) unterworfen wird. Der Phosphorgehalt, der unter diesen Bedingungen als Nucleinsäurephosphor (NS-P) angesprochen wird, dient als Basis für die Berechnung des NS-Gehaltes. Das setzt aber voraus, daß der Phosphorgehalt der betreffenden RNS bzw. DNS bekannt ist. Substrahiert man vom NS-P-Gehalt die Mengen an DNS-P, wie sie auf Grund der Diphenylaminreaktion (BURTON) anzunehmen sind, so kann man die Differenz als RNS-P ansehen und durch Multiplikation mit einem Faktor in RNS-Mengenangaben umwandeln. Da den colorimetrischen DNS-Bestimmungen Eichkurven zugrunde gelegt werden, für deren Aufstellung im Handel befindliche DNS-Präparate verwendet werden, können solche Berechnungen des NS-Gehaltes nur relativen Charakter haben. Es gelingt jedoch auf dem Analysenweg B_1, d. h. bei Anwendung der Methode von SCHMIDT und THANNHAUSER, nach basischer Hydrolyse die DNS durch Ansäuerung mit TCE und Schwefelsäure (vgl. COX 1957) auszufällen und durch Behandlung dieses Niederschlages mit heißer Perchlorsäure DNS wieder in Lösung zu bringen. Führt man an solchen Lösungen nebeneinander Phosphor- und DNS-Bestimmungen aus, so ist man in der Lage, die Korrelation zwischen Intensität der Diphenylaminreaktion (DNS) und den ihr entsprechenden Phosphormengen (DNS-P) zu bestimmen. Dadurch werden die errechneten DNS-Mengen frei von der Willkür, die durch Verwendung artfremder Test-DNS (DNS aus Sperma; s. oben) für die Aufstellung der Eichkurve gegeben ist.

Schließlich kann auch der indirekt ermittelte RNS-P-Gehalt (NS-P minus DNS-P) gesichert werden, wenn Analysengang C eingeschaltet wird. Wie oben ausgeführt, gelingt es durch Extraktion mit kalter Perchlorsäure (s. S. 265), RNS-haltige Lösungen zu gewinnen, die weitgehend frei von Störstoffen sind und Phosphormengen (RNS-P) enthalten, die den auf der Basis von E_{260}-Messungen unter Verwendung einer Eichkurve (Hefe-RNS) bestimmten RNS-Konzentrationen größenordnungsmäßig entsprechen. Gegenüber 8,4% RNS-P bei der hier als Test-NS benutzten Hefe-RNS weist die mit kalter Perchlorsäure gewonnene *Epilobium*-RNS einen RNS-P-Gehalt von 8,1% auf. Somit bietet sich die Möglichkeit, die Analysenergebnisse nach Schema A durch Bestimmungen nach B_1 und C zu sichern und sie den bei dem betreffenden Objekt vorliegenden Verhältnissen anzupassen.

Weiter sollen methodische Wege aufgezeigt werden, die spektroskopische Bestimmungen der RNS nach basischer Hydrolyse erlauben. Die bereits erwähnten Vorteile einer basischen Extraktion der NS


Substanz
A
B
C
0,5 n HClO4
30 min, 70° C
1 n KOH
18 Std, 37° C
Ansäuern
1 n HClO4
18 Std, +4° C
B1
B2
Niederschlag (DNS)
Überstand (RNS)
0,5 n HClO4
30 min, 70° C
DNS-Extrakt
Hydroly
1 n H2SO4
Purinfällung
0,1 n HCl
3mal 5 min, 100° C
Adenin
Guanin
Gesamt-NS-Extrakt
RNS-Extrakt
E260
NS-P
DNS
DNS-P
DNS
Neutralisation, basische Hydrolyse, quantitative Purin-bestimmung nach B2
RNS-P
E260

(s. S. 266) bringen aber den Nachteil mit sich, daß die nach Ausfällung der DNS erhaltenen Lösungen neben den RNS-Spaltprodukten noch starke Verunreinigungen andersartiger Stoffe aufweisen, die spektroskopische Bestimmungen der RNS sehr erschweren. Der unter B_2 im Schema (S. 270) skizzierte Analysengang ermöglicht die quantitative Bestimmung der RNS-Purine (Adenin, Guanin). Diese werden als Silbersalze ausgefällt und mit heißer Salzsäure wieder in Lösung gebracht (s. S. 266). Unter Benutzung der molaren Extinktionskoeffizienten der Purine bei bestimmten Wellenlängen (vgl. Cox 1957) gelingt die Berechnung der Adenin- bzw. Guaninkonzentration. Die UV-Spektren solcher Lösungen sind gut reproduzierbar (Abb. 4). Spektroskopische Bestimmungen der RNS-Pyrimidinbasen (Cox 1957, Kerr, Seraidarian und Wargon 1949) sind unbefriedigend, da sie durch die Fremdstoffe gestört werden. Eine Reinigung der Lösungen durch Verwendung von Ionenaustauscher (vgl. Loring, Fairley, Bortner und Seagran 1952) dürfte erfolgversprechend sein, so daß die quantitativen Bestimmungen auch auf die Pyrimidinbasen ausgedehnt werden könnten[1]. Für RNS-Bestimmungen kann aber auch schon die quantitative Erfassung der RNS-Purine ausreichen. Von Nachteil ist nur die Tatsache, daß bei der basischen Hydrolyse neben NS auch andersartige phosphorhaltige Substanzen in Lösung gehen (z. B. Phosphoproteine) und somit eine Zuordnung des RNS-P nicht möglich ist. Hier kann man Abhilfe schaffen, indem man den Analysengang C einschaltet. Wird nämlich in einem Teil des kalten Perchlorsäureextraktes der RNS-P-Gehalt bestimmt, so kann der übrige Teil nach vorheriger Neutralisation dem Analysengang B_2 unterworfen werden. Dadurch ist man in der Lage, den so ermittelten RNS-Adenin- bzw. -Guanin-Mengen die entsprechenden RNS-P-Konzentrationen zuzuordnen. Dieser Weg ist freilich nur dann möglich, wenn man sicher ist, daß die RNS in dem Perchlorsäureextrakt und die unter diesen Bedingungen noch im Rückstand vorhandene sich nicht im Puringehalt voneinander unterscheiden. Diese Frage läßt sich klären, wenn man in beiden Fällen aus den nach B_2 — also bei der unmittelbaren Analyse nach Schema B und B_2 sowie nach Schema C und folgendem B_2 — ermittelten Mengen Adenin und Guanin den Quotienten Adenin/Guanin bildet.

Zusammenfassung

Es wird über methodische Erfahrungen berichtet, die bei quantitativen Nucleinsäurebestimmungen an Eiweißpräparaten aus *Epilobium*-Blättern gemacht wurden. Bei kritischer Überprüfung bekannter Bestimmungsmethoden wurden Fehlerquellen aufgedeckt, die besonders

[1] Eine kürzlich erschienene Arbeit von de Deken-Grenson und de Deken (1959) bestätigt diese Ansicht. Auf die Ergebnisse dieser Veröffentlichung soll hier besonders hingewiesen werden.

bei UV-Absorptionsmessungen (E_{260}) auftreten und zu erheblichen Irrtümern führen können. Auf Grund dieser Feststellungen und eigener Untersuchungen wird ein Analysenschema vorgeschlagen, bei dem der Versuch unternommen wurde, verschiedene Bestimmungsmethoden sinnvoll miteinander zu verknüpfen.

Literatur

BERENBLUM, I., and E. CHAIN: An improved method for the colorimetric determination of phosphate. Biochem. J. **32**, 295—298 (1938).

BÖTTGER, I., u. R. WOLLGIEHN: Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Nucleinsäure- und Eiweißstoffwechsel in grünen Blättern höherer Pflanzen. Flora (Jena) **146**, 302—320 (1958).

BURTON, K.: A study of the conditions and mechanism of the diphenylamin reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. Biochem. J. **62**, 315—323 (1956).

CHIBA, Y., and K. SUGAHARA: The nucleic acid content of chloroplasts isolated from spinach and tobacco leaves. Arch. Biochem. **71**, 367—376 (1957).

COX jr., R. S.: The nucleotide composition of the total ribonucleic acid in subcellular fractions of resting and regenerating rat liver. Biochim. biophys. Acta **24**, 61—66 (1957).

DEKEN-GRENSON, M. DE, and R. H. DE DEKEN: Elimination of substances interfering with nucleic acids estimation. Biochim. biophs. Acta **31**, 195—207 (1959).

DORNER, R. W., A. KAHN and S. G. WILDMAN: Proteins of green leaves. VII. Synthesis and decay of the cytoplasmic proteins during the life of the tobacco leaf. J. biol. Chem. **229**, 945—952 (1957).

DORNER, R. W., A. KAHN and S. G. WILDMAN: Proteins of green leaves. VII. The distribution of fraction I protein in the plant kingdom as detected by precipiting and ultracentrifugal analyses. Biochim. biophys. Acta **29**, 240—245 (1958).

EGGMAN, L., S. J. SINGER and S. G. WILDMAN: The proteins of green leaves. V. A cytoplasmic nucleoprotein from spinach and tobacco leaves. J. biol Chem. **205**, 969—983 (1953).

FIERS, W., u. J. STOCKX: Ein neues Fällungsmittel für Ribonucleinsäure und seine Anwendung bei der Bestimmung von Ribonuclease. Naturwissenschaften **44**, 115 (1957).

GULICH, L.: Veränderungen in der Nucleinsäure-Fraktion grüner Blätter im Zusammenhang mit photoperiodischer Induktion. Planta (Berl.) **54**, 374—393 (1960).

HÄNSEL, R.: Zellsaftlösliche Pigmente (Anthocyane und Flavonoide). In H. F. LINSKENS, Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

HANES, C. S., and F. A. ISHERWOOD: Separation of the phosphoric esters on the filter paper chromatogram. Nature (Lond.) **164**, 1107—1112 (1949).

HEILINGER, F.: Untersuchungen über die Desoxyribonukleinsäure bei Bakterien. Beitr. Biol. Pflanz. **30**, 179—238 (1954).

HOLDEN, M.: The fractionation and enzymatic breakdown of some phosphorus compounds in leaf tissue. Biochem. J. **51**, 433—442 (1952).

KERN, H.: Über das Vorkommen von Nucleinsäuren in isolierten Chloroplasten. Diss. Münster 1956 und Protoplasma **50**, 505—543 (1959a).

KERN, H.: Ein Beitrag zur quantitativen Bestimmung von Nucleinsäuren in grünen Blättern. Planta (Berl.) **53**, 595—601 (1959b).

KERN, H.: Zur quantitativen Bestimmung von Gerbstoffen. Pharmazie **14**, 563—565 (1959c).

KERR, S. E., K. SERAIDARIAN and M. WARGON: Studies on ribonucleic acid. II. Methods of analysis. J. biol. Chem. **181**, 761—771 (1949).

LINSKENS, H. F.: Papierchromatographie in der Botanik. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1959.

LORENZEN, H., u. H. G. RUPPEL: Versuche zur Gliederung des Entwicklungsverlaufs der Chlorella-Zelle. Planta (Berl.) **54**, 394—403 (1960).

LORING, H. S., J. L. FAIRLEY, H. W. BORTNER and H. L. SEAGRAN: A spectrophotometric method for the analysis of the purine and pyrimidine components of ribonucleic acid. J. biol. Chem. **197**, 809—821 (1952).

MARKHAM, R.: Nucleic acids, their components and related compounds. In K. PAECH u. M. V. TRACEY, Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. 4. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955.

MICHAELIS, P.: Wege und Möglichkeiten zur Analyse des plasmatischen Erbgutes. Biol. Zbl. **73**, 353—399 (1954).

OGUR, M., and G. ROSEN: The nucleic acids of plant tissues. I. The extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. Arch. Biochem. **25**, 262—276 (1950).

PARTRIDGE, S. M.: Filterpaper partitition chromatography of sugars. Biochem. J. **42**, 238 (1948).

PIRIE, N. W.: The isolation from normal tobacco leaves of nucleoprotein with some similarity to plant viruses. Biochem. J. **47**, 614—625 (1950).

SCHMIDT, G., and S. J. THANNHAUSER: A method for the determination of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid, phosphoproteins in animal tissues. J. biol. Chem. **161**, 83—89 (1945).

SCHNEIDER, W. C.: Phosphorus compounds in animal tissues. J. biol. Chem. **161**, 293 (1945).

SINGER, S. J., L. EGGMAN, J. M. CAMPBELL and S. G. WILDMAN: The proteins of green leaves. IV. A high molecular weight protein comprising a large part of the cytoplasmic proteins. J. biol. Chem. **197**, 233—239 (1952).

STEFANO, H. S. DI: Perchloric acid extraction of ribose nucleic acid from cytological preparations. Science **115**, 316—317 (1952).

WILDMAN, S. G., and J. BONNER: The proteins of green leaves. I. Isolation, enzymatic properties and auxin content of spinach cytoplasmatic proteins. J. Arch. Biochem. **14**, 381—413 (1947).

Dr. HARTMUT KERN, Botanisches Institut der Universität
Münster i. W., Schloßgarten Nr. 3

Planta 55, 274—282 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule Stuttgart-Hohenheim (Direktor: Prof. Dr. H. Walter)

ÜBER DIE GRAVIMETRISCHE METHODE ZUR BESTIMMUNG DER SAUGSPANNUNG UND DAS PROBLEM DES NEGATIVEN TURGORS

I. Mitteilung

Von

K. Kreeb

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. Mai 1960)

A. Einführung

Slatyer berichtete 1958 über eine neue Versuchsanordnung zur Bestimmung der Saugspannung (Saugkraft) der Pflanzen. Sie beruht auf einer Modifikation der von Arcichovskij und Arcichovskaja (1931) beschriebenen Methode, wobei der Gewichtsverlust bzw. die Gewichtszunahme von Blattproben im Dampfraum über Lösungen mit verschiedenem osmotischem Wert bestimmt wird. Dabei fällt eine Fehlerquelle weg, die bei früher vorgeschlagenen Methoden (Ursprung und Blum 1916, Ursprung 1923, Lyon 1936, Meyer und Wallace 1941 und Ashby und Wolf 1947) aufzutreten pflegte: die Infiltration in die Intercellularen, die beim Untertauchen der Blätter in die Lösungen mit unterschiedlichem Dampfdruck eintritt und zu mehr oder weniger starken Streuungen bzw. verfälschten Ergebnissen führt.

Da aber auch bei der Methode nach Arcichovskij und Arcichovskaja (1931) noch Streuungen festzustellen sind, führte Slatyer (1958) eine genaue Temperaturkontrolle ein, wodurch gut reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten waren. Die vorliegenden Untersuchungen dienten u. a. dazu, die Angaben Slatyers nachzuprüfen. Dabei ergaben sich noch einige Ansatzpunkte für weitere Verbesserungen, die im folgenden beschrieben werden sollen, und anschließend einige Messungen an welkenden Pflanzen.

B. Die Methode nach Slatyer

Slatyer führte seine Messungen in einem temperaturkonstanten Raum durch, der bei $25 \pm 0{,}5^{\circ}$ C gehalten wird. Darin befindet sich ein großes Wasserbad mit etwa 200 l, und in diesem ein 2. Wasserbad mit etwa 75 l Inhalt. Im äußeren Wasserbad kann die Temperatur auf $\pm$ 0,05° C und im inneren Wasserbad angeblich auf 0,001° C genau gehalten werden. Kontaktthermometer bzw. Thermoregulatoren, z. T. mit elektronischem Relais gekuppelt, dienten als Steuerungs-

elemente für Heizung und Kühlung. Als Heizelement wurde eine 200 Watt-Glühbirne verwendet, die eine geringe Wärmekapazität aufweist. Kühlung, wenn erforderlich, erfolgte durch eine kupferne Kühlschlange, durch die Wasser von 20° C geleitet wurde. Als Meßgefäße für die Durchführung der Versuche dienten Marmeladegläser von der Größe 6 × 6 cm. Sie sind bis zu $^2/_3$ mit Sand (Beschwerung) gefüllt. In der Mitte steckt ein etwa 2 cm weites Glasrohr, auf dem sich ein Sieb befindet, das als Ablage für die Blätter bzw. Blatteile benützt wird. Im allgemeinen dienten für die Messung Blattscheiben (günstiger ∅ 0,7 cm), die mit einem Korkbohrer ausgestanzt wurden. Die Probegefäße stehen für die Dauer des Versuchs — im allgemeinen 24 Std — im inneren Wasserbad, in dem ebenso wie im äußeren eine starke Druckumlaufpumpe für eine gute Durchmischuug des Wassers sorgt. Die eigentliche Durchführung der Saugspannungs-Messung geschieht so, daß gut vergleichbare Blattproben über verschiedene Lösungen mit steigendem osmotischem Wert kommen, also z. B.: 0 at, 5 at, 20 at, 30 at. In jedem Fall wird das Ausgangs- und Endgewicht der Blätter mit einer Schnellpräzisionswaage — wir verwenden Sartorius Selecta — bestimmt. Die Quotienten Endgewicht: Ausgangsgewicht werden in ein Diagramm eingezeichnet. Der Schnittpunkt der erhaltenen Kurve mit der 1,000-Linie (= keine Gewichtsänderung) ergibt die Saugspannung der Blätter (vgl. die Kurven in der Abb. 3). Der Bau des etwas veränderten doppelten Wasserbades, das sich gut bewährt hat, geht aus Abb. 1 hervor. Die dabei verwendeten Apparate zur Temperaturkontrolle sind in der Legende zu Abb. 1 erwähnt. Auch wir benützten eine Temperatur von etwa 25° C. Doch wird die Raumtemperatur bei etwa 24° C gehalten. Durch eine an das Wasserleitungssystem angeschlossene Kühlvorrichtung wird das äußere Bad stets leicht gekühlt. Die Relais haben somit die Aufgabe, nur die Heizvorrichtungen zu betätigen. Da stets ein Wärmegefälle nach außen hin vorhanden ist, kann eine Überhitzung des Wasserbades nicht eintreten.

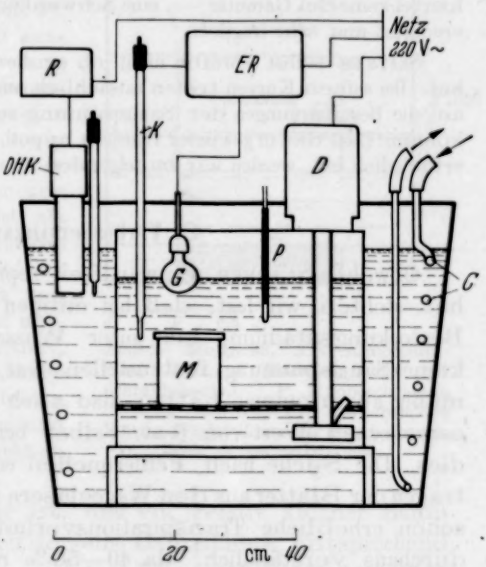


Abb. 1. Doppeltes Wasserbad für die Saugspannungsmessungen (halbschematisch). Es bedeuten: *C* Kupferne Kühlschlange, z. T. im Querschnitt gezeichnet. *D* Kreiselpumpe KP 200 (Fa. Haake, Berlin). *DHK* Kreiselpumpe, kombiniert mit Heizelement und Kontaktthermometer, Type EC (Fa. Haake). *ER* Elektronisches Relais, Type R 57 (Fa. Colora, Lorch). *G* 100 Watt-Glühbirne. *K* Kontaktthermometer, 8 mm = 2° C. *M* Meß-Gefäß zur Aufnahme der Blätter. *P* NTC-Widerstandsthermometer. *R* Relais, Type EC (Fa. Haake)

Die von SLATYER angegebene Temperaturschwankung von weniger als 0,001° C im inneren Wasserbad versuchten wir durch direkte Messung nachzuprüfen, und zwar mittels eines NTC-Widerstandsthermometers, unter Verwendung einer Brückenschaltung. Die Registrierung erfolgte über ein Spiegelgalvanometer, das mit einem Nachlaufschreiber verbunden war. Das Meßergebnis war bei mehreren Wiederholungen immer dasselbe: Die Temperaturschwankungen betragen bei

direkter Messung der Wassertemperatur im inneren Bad einige Zehntel ° C. Wird der NTC-Widerstand in ein großes Reagensglas eingeschlossen, das im inneren Wasserbad hängt, so bleiben die kurzfristigen Schwankungen bei einigen Tausendstel ° C; langfristig läßt sich die Temperatur aber nur auf etwa 0,05° C genau einhalten. Dies dürfte auch für die Meßgefäße selbst gültig sein und genügt unseren Anforderungen. Ob es rein technisch überhaupt gelingt — erfahrene Firmen übernehmen hierbei keinerlei Garantie —, eine Schwankung von $^1/_{1000}$° C nicht zu überschreiten, erscheint uns sehr fraglich.

Slatyer selbst schreibt nicht, ob er die Temperaturschwankung nachgeprüft hat. Bei seinen Kurven treten tatsächlich nur geringe Streuungen auf, und er gibt an, die Bestimmungen der Saugspannung auf etwa 0,2 at genau durchführen zu können. Daß dies in gewisser Hinsicht hypothetisch sein dürfte, aber auch gar nicht erforderlich ist, werden wir im folgenden zu zeigen versuchen.

C. Verbesserungsvorschläge

Obwohl Slatyer einwandfrei reproduzierbare S-Werte[1] gemessen hat, stellten wir fest, daß bei einigen Pflanzen, z. B. bei Weizen im Bestockungsstadium, bei guter Wasserversorgung häufig überhaupt keine Saugspannung festzustellen war, da alle Blattproben gewichtsmäßig abgenommen hatten, also auch über reinem Wasser mit einem osmotischen Wert von 0 at. Selbst bei gewelkten Blättern zeigte sich dies. Die Suche nach Fehlerquellen ergab zunächst, daß beim Übertragen der Blätter aus den Wägegläsern in die Meßgefäße und umgekehrt schon erhebliche Transpirationsverluste eintreten können. Dies ist durchaus verständlich, da 40—50% relative Luftfeuchtigkeit, die in unseren Laborräumen gemessen wurden, einer Saugspannung von 1221—924 at entsprechen. Wir verwendeten daraufhin für das Übertragen der Proben eine feuchte Kammer (ähnlich einer Impfkammer), die z. T. mit feuchtem Filtrierpapier ausgeschlagen war. Hierbei ließ sich eine relative Luftfeuchtigkeit von mindestens 96% erzielen, was einer Saugspannung von 54,5 at entspricht. Bei raschem Arbeiten waren jetzt die Wasserverluste durch Transpiration unbedeutend.

Weitere Kontrollversuche mit gewelkten Weizenblättern ergaben aber immer noch sehr niedrige Saugspannungs-Werte (um 2 at). Der entscheidende Fehler konnte nun nur noch in der Konstruktion des Meßgefäßes gesucht werden. Wenn man niedrige Saugspannungen bis etwa 10 at zu prüfen hat, so bedeutet dies, daß sich im Dampfraum über der Flüssigkeit eine relative Luftfeuchtigkeit zwischen 100 und 99,8% einstellen muß. Nun ist bekannt, daß schon die Erzeugung einer relativen Dampfspannung von 98% große Schwierigkeiten bereitet. Dieser Wert würde noch immer 26,9 at entsprechen. Saugspannungen, die darunter liegen, könnten in diesem Falle also gar nicht festgestellt werden.

[1] S = Saugspannung.

Der Dampfraum im Meßgefäß nach SLATYER muß relativ groß im Vergleich zu der verdunstenden Wasseroberfläche gehalten werden, damit das Wasser nicht mit den Proben in Berührung kommt.

Um diese Nachteile zu beseitigen, haben wir folgende Anordnung gewählt (Abb. 2). Das Glas wird z. T. mit Schaumstoff ausgefüllt. Am Grunde liegt zur Beschwerung ein Bleistück, eingebettet in einen Schaumstoffring von 1 cm Höhe. Darüber folgt eine weitere Lage von 2 cm Höhe, dann ein Schaumstoffring von 1 cm Höhe und darüber ein Stück von 2 cm Höhe. Zwischen den letzten beiden liegt ein Aluminiumsieb als Ablage für die Probeschälchen, in welche die zu untersuchenden Blattproben kommen. Das ganze schließt eine Schaumstofflage von 2 cm Höhe ab. Alle Schaumstoffstücke werden gut mit den NaCl-Lösungen durchtränkt, so daß bei leichtem Druck gerade noch einige Flüssigkeitstropfen herausquellen. Die beiden unteren Lagen können allerdings vollkommen naß sein. Man legt sie am besten direkt in die Flüssigkeit.

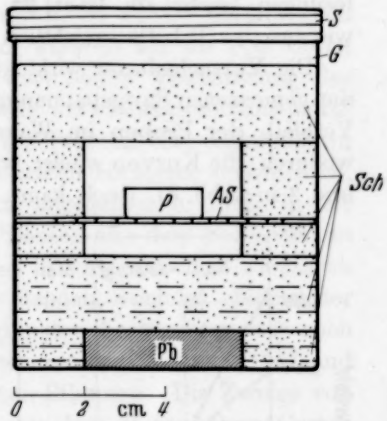


Abb. 2. Meßgefäß. *AS* Aluminium-Sieb. *G u. S* Marmeladeglas mit Schraubdeckel. *P* Probeschälchen (Messing oder Glas) zur Aufnahme der Blätter. *Pb* Bleiklotz zur Beschwerung. *Sch* Schaumstofflagen

Der Vorteil dieser Anordnung ist, daß ein relativ kleiner Raum entsteht, an dessen inneren Flächen derselbe Dampfdruck, entsprechend dem osmotischen Wert der verwendeten Lösungen herrscht. Eine Flüssigkeitsoberfläche ist nicht vorhanden, und bei vorsichtigem Arbeiten bleibt das erwähnte Probeschälchen mit den Blättern — wir haben es vorgezogen, sie in kleine etwa 3×8 mm große Stücke zu zerschneiden — vollkommen isoliert von der den Dampfdruck bestimmenden Lösung. Weitere Messungen ergaben nun gute Resultate.

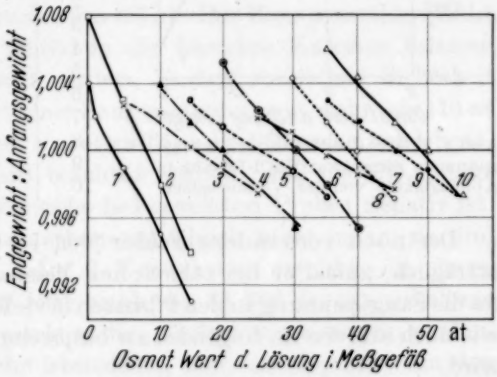


Abb. 3. Meßkurven zur Bestimmung der Saugspannung von Kontrollösungen. Erklärung der Zahlen s. Tabelle

Um über die Genauigkeit der Methode mehr zu erfahren, haben wir zahlreiche Kontrollbestimmungen durchgeführt, bei denen an Stelle von lebendem Material Lösungen mit bekanntem osmotischem Wert benützt worden sind. Es zeigt sich (Abb. 3), daß die

Abweichungen der gefundenen Werte vom tatsächlichen Wert nicht größer sind als 1—2 at, bei höheren Saugspannungswerten der Kontrollösungen (mehr als 10 at) ist der Fehler in vielen Fällen sogar kleiner, wie aus der Tabelle ersichtlich ist.

Die Versuchsdauer wirkt sich dabei nach unseren Erfahrungen auf den gemessenen Saugspannungswert kaum aus. Zwar treten bei längerem Verbleib der Proben im Wasserbad größere Gewichtsdifferenzen auf, wodurch die Kurven steiler werden (vgl. Abb. 4 und die Kurven Nr. 1 und 2 in Abb. 3), doch kann dadurch, zumindest bei lebendem Gewebe, keine größere Genauigkeit erzielt werden, da dann mit Atmungsverlusten gerechnet werden muß. Wir haben daher, in Übereinstimmung mit SLATYER, die nachfolgenden Untersuchungen innerhalb 20—24 Std durchgeführt.

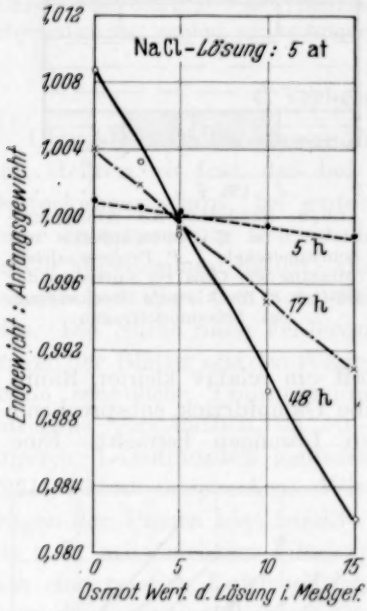


Abb. 4. Kontrollbestimmung der Saugspannung einer 5 at-NaCl-Lösung in Abhängigkeit von der Versuchsdauer

Tabelle. *Osmotischer Wert (W) der Kontrollösungen, die gemessene Saugspannung (S) und der bei der Messung aufgetretene Fehler.* Kurvennummer vgl. Abb. 3

Kurven Nr.	W at	S at	Fehler at	Versuchsdauer Std
1	5	3,5	−1,5	17
2	10	8,0	−2,0	22
3	15	16,5	+1,5	10
4	20	20,0	0,0	13
5	25	25,5	+0,5	9
6	30	30,2	+0,2	$13^1/_2$
7	35	34,2	−0,7	9
8	40	38,7	−1,3	14
9	45	45,6	+0,6	$10^1/_4$
10	50	49,0	−1,0	15

Der noch vorhandene Fehler von 1—2 at erscheint uns durchaus erträglich, zumal er bei zahlreichen Messungen kaum ins Gewicht fällt, da die Saugspannung in den Pflanzen in vielen Fällen erheblich schwankt, wie auch aus den im folgenden zu besprechenden Versuchsreihen deutlich wird.

D. Das Problem des negativen Turgordrucks

Die ersten Saugspannungsmessungen wurden gemacht, um nachzuprüfen, ob in noch lebensfähigen Blättern negative Turgordrucke aufzutreten vermögen. Entsprechende Angaben findet man bei CHIEN-REN CHU (1935/36) und neuerdings bei TYURINA (1957). Auf Grund einer brieflichen Mitteilung des Herrn Prof. RENNER wählten wir zunächst

Buxus sempervirens. In einem Vorversuch hatte sich gezeigt, daß man schon nach 8 Tagen Welken im Labor Saugspannungen von 170 at erhalten konnte. Es erschien jedoch fraglich, ob solche Blätter noch lebensfähig sind. Um dies zu entscheiden, wählten wir die von LIETH (1958) beschriebene Methode der colorimetrischen Bestimmung des Lichtkompensationspunktes. Dabei wurde der Kompensationspunkt sowohl bei gewelkten Proben als auch bei Proben, die, eingehüllt in feuchtes Filtrierpapier, 24 Std in einer feuchten Kammer verbrachten, gemessen. Da der Kompensationspunkt, angegeben in Lux, in der kalten Jahreszeit nach Übertragen der Pflanzen aus dem Freien in ein warmes Zimmer sinkt (vgl. PAVLETIČ und LIETH), wurde er zusätzlich bei Kontrollzweigen, die stets in Wasser standen, verfolgt. Neben der Saugspannung und den Kompensationspunkten bestimmten wir noch den osmotischen Wert, den Refraktometerwert (vgl. KREEB 1957 und 1958) und den Wassergehalt der gewelkten Pflanzen. Die Zweige von *Buxus sempervirens* wurden am 9. 2. 60 aus dem Botanischen Garten Hohenheim geholt, zunächst einen Tag in Wasser gestellt, dann mit Ausnahme der Kontrolle ohne Wasser im Zimmer bei etwa 20—25° C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 40—50% gehalten. Das Ergebnis des Hauptversuchs zeigt die Abb. 5. Die Saugspannung ist schon 1 Tag nach Unterbrechung der Wasserversorgung größer als der osmotische Wert, der mit dem Refraktometerwert etwa parallel läuft und leicht ansteigt, nämlich von etwa 22 at ab bis etwa 51 am 5. Tag. Zu diesem Zeitpunkt beträgt die Saugspannung bereits 115 at und der zugehörige negative Turgordruck etwa 65 at. Ein Kompensationspunkt konnte bei den Proben, die 24 Std in der feuchten Kammer belassen worden waren, noch festgestellt werden, Es darf somit mit Sicherheit angenommen werden, daß bei einer Saugspannung von mehr als 110 at und bei einem negativen Turgor von etwa 65 at die Pflanzen noch lebensfähig bleiben. Allerdings muß beachtet werden, daß die CO_2-Bilanz schon nach dem 2. Tag des Versuchs bei gewelkten Proben negativ ist. Die Pflanzen assimilieren dann schon tatsächlich nicht mehr, sie sind jedoch noch erholungsfähig. Am 6. Versuchstag erreicht die Saugspannung 230 at, doch zeigt jetzt auch die 24 Std feucht gehaltene Probe keinen Kompensationspunkt mehr. Es darf angenommen werden, daß diese Pflanzen nicht mehr lebensfähig sind, im Gegensatz zu den Kontrollpflanzen, deren Kompensationspunkt nach anfänglichem starkem Absinken nun auf etwa 200 Lux geblieben ist. Der Wassergehalt nimmt mehr oder weniger kontinuierlich ab, von anfangs 132% des Trockengewichtes auf 28% nach 5 Tagen.

Ganz anders reagierten Proben von *Hedera helix*, die zum Welken aufgestellt worden waren (Zweige mit Folgeblättern wurden am 9. 3. 60 aus dem Botanischen Garten Hohenheim entnommen und dann wie bei

Buxus sempervirens behandelt). Der osmotische Wert und der Refraktometerwert stiegen nur wenig an (Abb. 6). Die Saugspannung nähert sich am 7. Tag dem osmotischen Wert. Zu diesem Zeitpunkt konnte bei gewelkten und 24 Std feucht gehaltenen Blättern noch eine

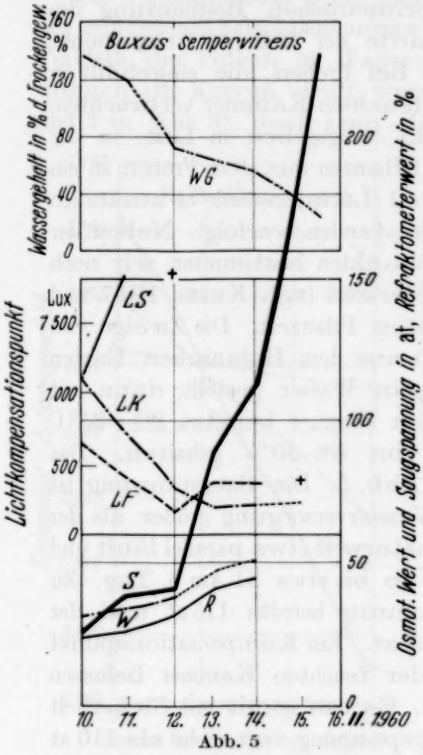


Abb. 5

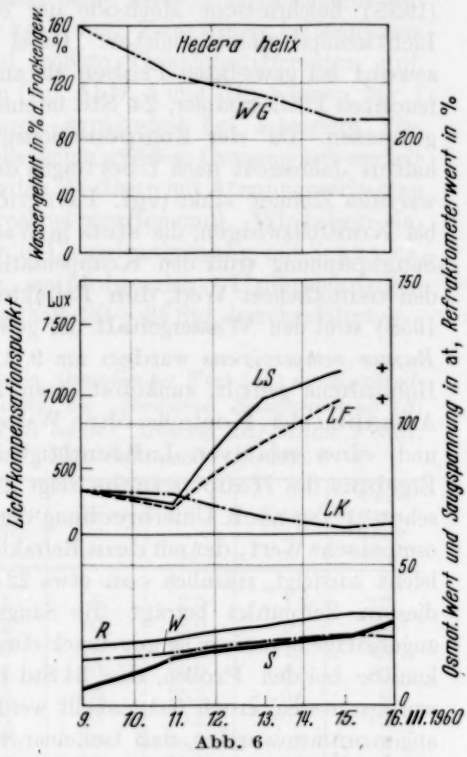


Abb. 6

Abb. 5. Bestimmung der Saugspannung (*S*) bei welkenden Blättern von *Buxus sempervirens*. Es bedeuten: *W* Osmotischer Wert. *R* Refraktometerwert des Zellsaftes. *LK* Lichtkompensationspunkt der Kontrollpflanzen. *LS* Lichtkompensationspunkt von den gewelkten Proben. *LF* Lichtkompensationspunkt der gewelkten Proben nach 24stündigem Aufenthalt in einer feuchten Kammer. *WG* Wassergehalt in % des Trockengewichts

Abb. 6. Bestimmung der Saugspannung bei welkenden *Hedera helix*-Blättern. Abkürzungen wie in Abb. 5

positive CO_2-Bilanz gefunden werden. Im Gegensatz zu *Buxus sempervirens* steigt jedoch hier die Kurve, die die Änderung des Kompensationspunktes bei den feuchten Blättern wiedergibt (LF), vom 4. Tag ab langsam an. Nach dem 7. Tag, als ein geringfügiger negativer Turgor aufgetreten war, ist bei den gewelkten und bei den 24 Std feucht gehaltenen Proben keine Photosynthese mehr festzustellen. Die Kontrollpflanzen zeigen aber noch immer einen Kompensationspunkt von < 100 Lux. Der Wassergehalt sinkt in diesem Fall von etwa 160% des Trockengewichts auf etwas weniger als 100% am 8. Tage, also nicht so stark wie bei *Buxus sempervirens*.

E. Diskussion

Das hier gefundene Ergebnis zeigt, daß zumindest in einigen Fällen negative Turgordrucke und erhebliche Saugspannungen auftreten, ohne daß die Pflanzen ihre Lebensfähigkeit verlieren. Inwieweit diese unter Laboratoriumsbedingungen durchgeführten Versuche auf natürliche Verhältnisse übertragen werden können, muß zunächst offenbleiben. Dies gilt in verschiedener Hinsicht: 1. untersuchten wir zunächst nur Blätter von abgeschnittenen Zweigen, 2. erfolgte der Welkungsvorgang im Laboratorium unter künstlichen Bedingungen, und 3. mußte das Kriterium für die Lebensfähigkeit auf Grund der vorhandenen Ausrüstung gewählt werden, so daß die Frage offenbleibt, ob einige Messungen des Lichtkompensationspunktes nicht doch positiv ausgefallen wären, wenn stärkere Lampen mit größeren Lichtstärken zur Verfügung gestanden hätten.

Wir sind uns außerdem darüber im klaren, daß auch mit jahreszeitlichen Unterschieden gerechnet werden muß, wie etwa Chien-Ren Chu (1935/36) sie bei *Pinus montana* gefunden hat. Die oben gegebenen Einschränkungen (1—3) würden aber unserer Ansicht nach eher für extremere Werte als die von uns gefundenen sprechen. Somit sehen wir als erwiesen an, daß in Übereinstimmung mit den genannten Autoren die Saugspannung den osmotischen Wert erheblich übersteigen kann, wobei negative Turgordrucke auftreten. Offen bleibt zunächst die Frage, wie verschiedene Pflanzen bei der gegebenen Versuchsanordnung reagieren und wie hoch die Grenzwerte in Abhängigkeit von der Jahreszeit sind. Schließlich wäre zu prüfen, ob die Saugspannung für die Lebensvorgänge, vor allem die Photosynthese, ausschlaggebender ist oder der osmotische Wert. Entsprechende Versuchsreihen werden z. Z. durchgeführt bzw. vorbereitet.

Zusammenfassung

1. Die 1958 von Slatyer vorgeschlagene Methode zur Bestimmung der Saugspannung der Pflanzen wurde nachgeprüft und verbessert, so daß objektive Saugspannungswerte erhalten werden können.

2. In ersten Versuchen wurde gefunden, daß bei noch lebensfähigen *Buxus sempervirens*-Proben negative Turgordrucke von 65 at bei einer Saugspannung von 130 at auftreten.

Hedera helix erholte sich nach der Feuchtbehandlung nicht mehr, sobald die Saugspannung den osmotischen Wert von 25 at überschritten hatte.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. H. Walter herzlich danken für die Anregung zu dieser Arbeit und die wertvollen Ratschläge bei der Durchführung der Versuche. Außerdem danke ich Frl. V. Frank für ihre zuverlässige Assistenz bei einem Teil der Versuche, ebenso Frl. M. Önal, die die Messungen bei *Hedera helix* übernommen hatte, und Herrn F. Saile für wertvolle Dienste beim Zusammenbau der Apparaturen.

Literatur

Arcichovskij, V., u. N. Arcichovskaja: Untersuchungen über die Saugkraft der Pflanzen. II. Die gravimetrische Methode der Saugkraftmessungen an den Blättern. Planta (Berl.) **14**, 528—532 (1931).

Ashby, E., and R. Wolf: A critical examination of the gravimetric method of determination of suction force. Ann. Bot. (Lond.), N. S. **11**, 261—268 (1947).

Chien-Ren Chu: Der Einfluß des Wassergehaltes der Blätter der Waldbäume auf ihre Lebensfähigkeit, ihre Saugkräfte und ihren Turgor. Flora (Jena) **130**, 384—437 (1935/36).

Kreeb, K.: Hydratur und Ertrag. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 121—136 (1957).

Kreeb, K.: Die Bedeutung der Hydratur für die Kontrolle der Wasserversorgung bei Kulturpflanzen. Habil.-Schr. 1958. Auszug im Druck (Beitr. Biol. Pflanz.).

Lieth, H.: Grenzen und Anwendungsmöglichkeiten der colorimetrischen CO_2-Bestimmung. Planta (Berl.) **51**, 705—721 (1958).

Lyon, C. I.: Analysis of osmotic relations by extending the simplified method. Plant Physiol. **11**, 167—172 (1936).

Meyers, B. S., and A. M. Wallace: A comparison of two methods of determining the diffusion pressure deficit of potatoe tuber tissue. Amer. J. Bot. **28**, 838—843 (1941).

Pavletič, Z., u. H. Lieth: Der Lichtkompensationspunkt einiger immergrüner Pflanzen im Winter und im Frühjahr. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 309—314 (1958).

Slatyer, R. O.: The measurement of diffusion pressure deficit in plants by a method of vapor equilibration. Aust. J. biol. Sci. **2**, 349—365 (1958).

Tyurina, M. M.: The significance of the negative turgor pressure for the water relations of leaves. Bot. Ztg. **42**, 1035—1042 (1957) [Russisch]. Ref. Ber. wiss. Biol. **118**, S. 265.

Ursprung, A.: Zur Kenntnis der Saugkraft. VII. Eine neue vereinfachte Methode zur Messung der Saugkraft. Ber. dtsch. bot. Ges. **41**, 338—343 (1923).

Ursprung, A., u. G. Blum: Zur Methode der Saugkraftmessung. Ber. dtsch. bot. Ges. **34**, 525—539 (1916).

Dozent Dr. K. Kreeb,
Botanisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Stuttgart-Hohenheim

Planta 55, 283—291 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Gießen
(Direktor: Prof. Dr. D. von Denffer)

Über die Photolyse von Heteroauxin im ultravioletten Licht

pH-Abhängigkeit und Einfluss der Sauerstoffkonzentration*

Von
Walter Klingmüller

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. Mai 1960)

Den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis vom Abbau des Heteroauxins hat Ray 1958 zusammengefaßt. Die physiologische und biochemische Seite des Problems wurde vielfach studiert. Von den physikalisch-chemischen Grundlagen des Abbaus ist jedoch bisher nur wenig bekannt. Über 2 Teilfragen, die pH-Abhängigkeit der Photolyse im ultravioletten Licht und den zeitlichen Verlauf der Photolyse unter aeroben und anaeroben Bedingungen, wird deshalb im folgenden berichtet.

Methodik

Die kristallisierte Form der β-Indolessigsäure (IES) löst sich in Wasser nur schwer (Larsen 1955; Pilet et al. 1959). Es wurde deshalb 1%iger Äthylalkohol benutzt (Lösung der IES zunächst in 1 Teil Alkohol absolut, nach vollständiger Lösung auffüllen mit Aqua dest. auf 100 Teile). Die Lösungen sind nicht stabil, sie wurden deshalb stets frisch angesetzt. Zur Stammlösung (meist $4 \cdot 10^{-4}$ mol) wurde Citronensäure-Phosphat nach McIlvaine im Volumenverhältnis 1:1 zugegeben. Die pH-Werte wurden mit der Glaselektrode bestimmt.

Als UV-Quelle diente ein gestreckter Hg-Hochdruckbrenner S 500 der Quarzlampen-Gesellschaft Hanau. Um den Einfluß von Spannungsschwankungen im Netz auf die ausgestrahlte Energie zu vermeiden, wurde die Betriebsspannung auf 210 V einreguliert und während der Bestrahlung konstant gehalten. Je 10 cm^3 Lösung wurden in einem Quarzreagensglas (Höhe 17 cm, lichte Weite 1,3 cm) in vertikaler Stellung und parallel zum Brenner (Abstand 20 cm) angebracht.

Ab 45 min vor sowie während der Bestrahlung wurde die Lösung in raschem Strom mit Preßluft bzw. Stickstoff durchspült (etwa 70 cm^3 pro Minute). Die Preßluft passierte, um etwaige Ölspuren und CO_2 abzufangen, Aktivkohle und Natronkalk. Der Stickstoff (nachgereinigtes Produkt der Linde AG mit $O_2 < 0{,}001\%$) passierte außer Aktivkohle und Natronkalk noch pyrogenes Cu, um letzte Spuren von Sauerstoff zu entfernen[1].

* Unter Weiterführung einer Diplomarbeit der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Gießen 1955.

[1] Herrn Dr. H. J. Seifert vom Chemischen Institut unserer Universität bin ich für die vollständige Anordnung zu Dank verbunden.

Von anderen Autoren, die die UV-Photolyse der IES und ähnlicher Verbindungen studierten, wurden verschiedentlich unbewegte Lösungen bestrahlt. Hiergegen bestehen wichtige methodische Bedenken. Die Absorption der meisten Indolderivate im ultravioletten Bereich um 280 mμ beträgt für Konzentrationen von $5 \cdot 10^{-5}$ mol und Schichtdicken von 1 cm bereits etwa 46%. Es ergeben sich deshalb zwischen der der Strahlungsquelle zu- und abgewandten Seite der Lösung beträchtliche Unterschiede in der Strahlungsintensität. Für andere Wellenlängen ist die Absorption geringer, wodurch zusätzlich Unterschiede in der spektralen Energieverteilung der einwirkenden Strahlung entstehen. Hinzu kommt unterschiedliche Erwärmung auf beiden Seiten, lokale Änderung der Sauerstoffkonzentration, u.a.m. In bewegten Lösungen werden alle diese Differenzen ausgeglichen. Sofern, wie hier, zur Durchmischung ein Gasstrom benutzt wird, ist über die gesamte Bestrahlungszeit eine beliebig vorgegebene Sauerstoffkonzentration gewährleistet. Die mögliche Beeinflussung der Photolyse durch Ozon (JESSEL 1960) wird ausgeschlossen.

Zur Bestimmung der IES-Konzentration diente das Perchlorsäureverfahren (Salkowski-Reaktion) nach GORDON und WEBER (1951) mit den von BRAUNER angegebenen Verbesserungen (1953). Die Absorptionsmessungen wurden im Zeiss Opton Spektralphotometer mit Monochromator M 4 Q vorgenommen.

Bemerkungen zum Perchlorsäure-Verfahren

Die Überprüfung der notwendigen Entwicklungszeiten führte zu Abb. 1. Die stärkste Färbung tritt danach etwas später als von GORDON

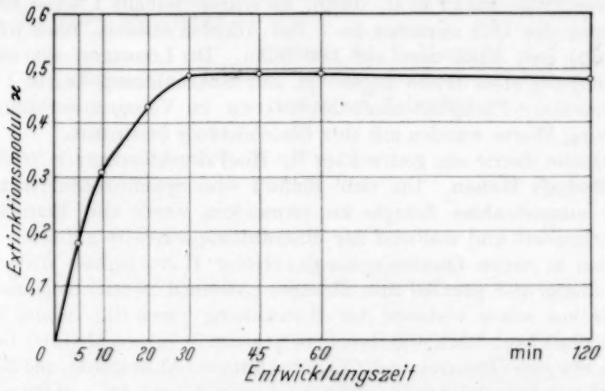


Abb. 1. Extinktionsmodul ε im Perchlorsäureverfahren (Salkowski-Reaktion) in Abhängigkeit von der Entwicklungszeit. IES-Konzentration $1 \cdot 10^{-4}$ mol, $\lambda = 530$ mμ, Entwicklung im Dunkelthermostaten bei 25° C

und WEBER angegeben auf (nach etwa 45 min). Die Farbtiefe läßt nach längeren Entwicklungszeiten (2 Std) im Gegensatz zu den Angaben anderer Autoren etwas nach. Für die folgenden Untersuchungen wurde

eine einstündige Entwicklungszeit gewählt, da hierbei Abweichungen bis zu ± 10 min nicht ins Gewicht fallen.

Die Wellenlänge, bei der die Absorption abgelesen werden soll, ist in der Literatur nicht einheitlich angegeben. Man findet 525, 530 und 535 mμ empfohlen. Die Absorptionskurve des Reaktionsproduktes wurde deshalb ausgemessen (Abb. 2). Das Absorptionsmaximum liegt bei 530 mμ. Der Unterschied gegenüber 525 mμ ist nur gering.

Die beim Perchlorsäure-Verfahren entstehende Farbtiefe in Abhängigkeit von der IES-Konzentration gibt Abb. 3, und zwar I. nach Gordon

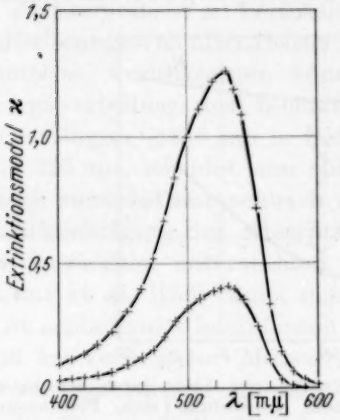


Abb. 2

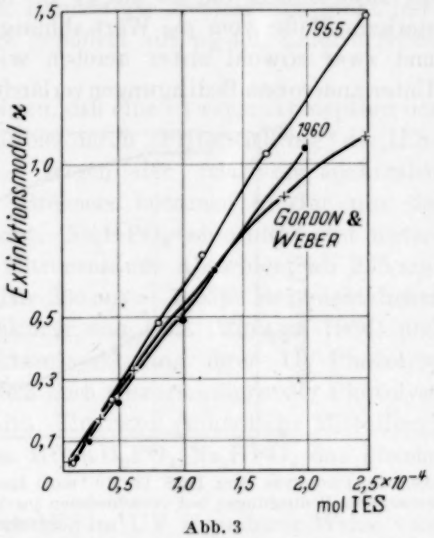


Abb. 3

Abb. 2. Absorption des Reaktionsproduktes im Perchlorsäureverfahren (Salkowski-Reaktion) nach einstündiger Entwicklung im Dunkelthermostaten bei 25° C. IES-Konzentration $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ bzw. $0{,}85 \cdot 10^{-4}$ mol

Abb. 3. Extinktionsmodul $\varkappa$ im Perchlorsäureverfahren (Salkowski-Reaktion) in Abhängigkeit von der IES-Konzentration. Nach verschiedenen Messungen. $\lambda = 530$ mμ

und Weber und II. nach eigenen Messungen an Merck-Substanzen von 1955 und 1960. Auf den Unterschied zwischen letzteren sei hingewiesen. Im Gegensatz zu Gordon und Weber und in Übereinstimmung mit Linser und Maschek (1953) erhalten wir für IES-Konzentrationen unter $2 \cdot 10^{-4}$ mol nahezu linear ansteigende Extinktionswerte. Auf die Umrechnung der gefundenen Extinktionen in Absolutwerte wurde deshalb im folgenden verzichtet.

Gewisse IES-Abbauprodukte, die bei der UV-Photolyse auftreten (Fischer 1954; Melchior 1957) geben im Perchlorsäureverfahren ebenfalls farbige Reaktionsprodukte, unter ihnen vor allem Skatol und Indol (Stowe und Thimann 1954). Die Farbstärke ist hier jedoch geringer, das Absorptionsmaximum liegt im kurzwelligeren Bereich. Für 530 mμ ergibt sich bei Skatol eine Extinktion von 10, bei Indol von 8,5 in Prozenten der Extinktion bei äquimolaren IES-Lösungen. Dies

bedeutet, daß nach vollständiger Zersetzung der IES und vollständiger Umwandlung in Skatol oder Indol maximal noch etwa 10% der anfänglichen IES-Konzentration vorgetäuscht werden können.

Über die p_H-Abhängigkeit der UV-Photolyse

Abb. 4 zeigt das Ergebnis der Bestrahlungsversuche bei unterschiedlichem p_H-Wert. Dargestellt ist die Absorption (Perchlorsäureverfahren) nach 2minütiger Bestrahlung unter aeroben und anaeroben Bedingungen in Prozenten der Kontrollen. Die Temperatur der Lösungen stieg während der Bestrahlung von 20 auf 24° C. Man erkennt, daß die Photolyse in starkem Maße vom p_H-Wert abhängt. Das Optimum liegt bei p_H 4,5 und zwar sowohl unter aeroben wie unter anaeroben Bedingungen. Unter anaeroben Bedingungen verläuft die Photolyse jedoch nur langsam.

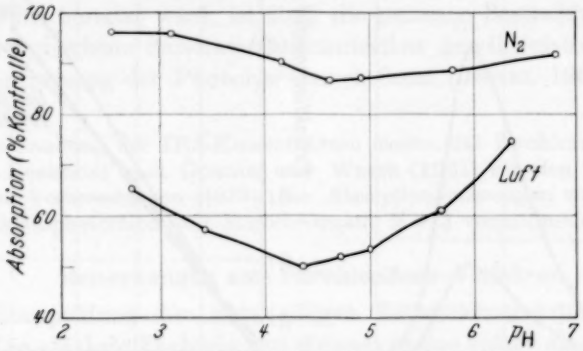


Abb. 4. Photolyse von IES ($2 \cdot 10^{-4}$ mol) im ultravioletten Licht unter aeroben und anaeroben Bedingungen bei verschiedenen p_H-Werten. Bestrahlung 2 min. Perchlorsäureverfahren

Während GALSTON (1949) an riboflavin-sensibilisierten IES-Lösungen bei Bestrahlung mit Glühlampenlicht Werte gefunden hat, die den hier mitgeteilten analog sind, und zwar eine Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit ausgehend vom alkalischen Gebiet in Richtung auf geringere p_H-Werte bis p_H 4,5, ohne dabei über diesen Wert hinaus weiterzumessen, haben L. und M. BRAUNER (1954) für dieselben Bedingungen (jedoch erhöhte Pufferkonzentration) eine Zunahme der Zersetzungsgeschwindigkeit nur bis p_H 6,0 beobachtet, jenseits davon aber, bei höheren Säuregraden, eine neuerliche Abschwächung der Zersetzung beschrieben. Ein ähnlich gelagertes Optimum, allerdings für enzymatische, nicht photolytische Zersetzung von IES-Lösungen ergibt sich aus Untersuchungen von TANG und BONNER (1947, Optimum zwischen p_H 6,2 und 6,7).

Obwohl die hier beschriebenen Versuche nicht ohne weiteres mit denen L. und M. BRAUNERS verglichen werden dürfen (UV-Licht gegenüber Glühlampenlicht, normale IES-Lösungen gegenüber riboflavin-

sensibilisierten Lösungen), hätte doch eine Übereinstimmung des gefundenen Zersetzungsoptimums mit L. und M. BRAUNERs Angaben den Erwartungen entsprochen.

L. und M. BRAUNER diskutierten die Möglichkeit, daß bei zu geringer Pufferkonzentration durch die Photolyse der IES der p_H-Wert der Lösungen steigen kann. Unter dieser Voraussetzung wäre das hier gemessene Optimum einem alkalischeren p_H-Wert zuzuordnen. Die von uns benutzte Pufferkonzentration (etwa 0,075 mol) liegt jedoch über der von L. und M. BRAUNER benutzten (etwa 0,056 mol). Ein Ansteigen des p_H-Wertes ließ sich auch nach 10minütiger Bestrahlung nicht feststellen (geprüft an $2 \cdot 10^{-4}$ mol IES, gepuffert auf p_H 4,6, unter aeroben Bedingungen).

Andererseits ist zu berücksichtigen, daß eine etwaige Absorption der Pufferlösungen im ultravioletten Gebiet durch „Filterwirkung" die IES-Photolyse verlangsamen könnte. Wegen der relativen spektralen Energieverteilung des benutzten Brenners kommen hierfür nur die Wellenlängen $\geqq 248$ mμ in Betracht. Na_2HPO_4 absorbiert erst unterhalb 220 mμ, scheidet also aus. Citronensäure absorbiert ab 255 mμ, jedoch zunächst nur schwach (ε für 250 mμ = 1,55). Bei zusätzlicher Berücksichtigung der Absorptionskurve von IES (MÜLLER 1954) und des inzwischen untersuchten Aktionsspektrums ihrer UV-Photolyse (CURRY et al. 1956) ergibt sich, daß auch Citronensäure die Photolyse nicht nennenswert beeinflussen kann. HUSTEDE (mündliche Mitteilung) fand bei veränderter Methodik in $HCl/KH_2PO_4/Na_2HPO_4$ das gleiche Zersetzungsoptimum (p_H 4,5).

Die Frage, ob die Photolyse der IES im UV in anderer Weise vom p_H-Wert abhängt als im Glühlampenlicht bei Sensibilisierung, soll hier offen gelassen werden. Es sei jedoch auf die Übereinstimmung des gefundenen Optimums mit dem pK-Wert der IES aufmerksam gemacht (4,6 bzw. 4,75 nach Angaben von ALBAUM et al. 1937 und von PILET et al.), die wir nicht für zufällig halten.

Der zeitliche Verlauf der Photolyse unter aeroben und anaeroben Bedingungen

Abb. 5 zeigt den zeitlichen Verlauf der Photolyse unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Die IES-Anfangskonzentration war $2 \cdot 10^{-4}$ mol, gepuffert auf p_H 4,8. Die Temperatur der Lösungen wurde während der Bestrahlung mitgemessen und zwischen 19 und 20° C gehalten. Man erkennt, daß unter den hier gewählten Versuchsbedingungen die Photolyse bei Belüftung der Lösungen schon nach 5 min praktisch vollständig ist (Restanzeige 6,4%). Im Stickstoffstrom ist hingegen auch nach 30 min noch IES vorhanden (Restanzeige 11,4%).

Bei der hier untersuchten Reaktion handelt es sich primär um einen Oxydationsvorgang, bei dem IES unter Aufnahme von Sauerstoff in Indolylglykolsäure übergeht (FISCHER 1954):

$$R—CH_2—COOH + 0 \rightarrow R—CHOH—COOH$$

L. und M. BRAUNER haben dies genauer formuliert. Die notwendige Energie liefern die einfallenden Lichtquanten. Fragt man nach dem zeitlichen Verlauf der Reaktion unter aeroben Bedingungen, so erscheint es, konstante und relativ hohe Bestrahlungsenergie vorausgesetzt, richtig anzunehmen, daß die Anzahl der pro Zeiteinheit reagierenden IES-

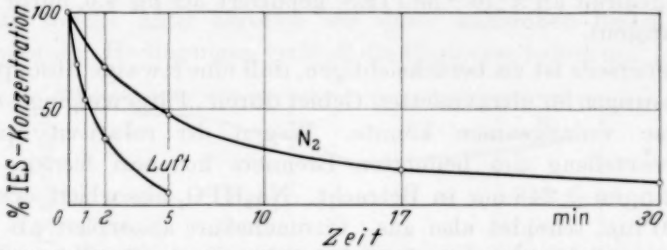


Abb. 5. Zeitlicher Verlauf der Photolyse von IES im ultravioletten Licht unter aeroben und anaeroben Bedingungen. IES-Ausgangskonzentration $2 \cdot 10^{-4}$ mol, gepuffert auf p_H 4,8. Temperatur 19—20° C

Moleküle der jeweiligen IES-Konzentration proportional ist. Es ergibt sich daraus für die Zersetzungsgeschwindigkeit v der Ansatz:

$$v = -\frac{dc}{dt} = k \cdot c$$

(c = jeweilige IES-Konzentration, t = Zeit, k = Proportionalitätsfaktor). Er führt nach Umformung und Integration zu

$$-kt = \ln c - \ln c_0 = \ln\left(\frac{c}{c_0}\right) \quad \text{bzw.} \quad c = c_0 \cdot e^{-kt}.$$

Die so erhaltene Exponentialfunktion ist bekanntlich für zahlreiche chemische und biochemische Umwandlungsprozesse gültig. Sie kennzeichnet Reaktionen, deren Geschwindigkeit von der Konzentration nur eines Reaktionspartners abhängt. Es sind dies definitionsgemäß Reaktionen I. Ordnung.

Kriterium einer Reaktion I. Ordnung ist, daß ln (c/c_0) der Zeit t proportional sein, d.h. beim Auftragen gegen die Zeit eine Gerade ergeben muß, die im 0-Punkt des Koordinatensystems beginnt. Abb. 6 zeigt die Anwendung dieses Kriteriums auf die erhaltenen Daten. Hierin ist getrennt für aerobe und anaerobe Bedingungen log ($\varkappa_0/\varkappa$) (log an Stelle von ln, $\varkappa$ an Stelle von c) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit dargestellt (Kurvenzug I). Es läßt sich danach für aerobe Bedingungen auf einen Reaktionsverlauf nach der I. Ordnung schließen. Bemerkt

sei, daß schon GALSTON (1949) für riboflavinsensibilisierte IES-Lösungen bei Bestrahlung mit Glühlampenlicht einen Reaktionsverlauf nach der I. Ordnung berechnet hat.

Für anaerobe Bedingungen ist das Kriterium nicht erfüllt. Hier läßt sich ein Reaktionstyp nach der II. Ordnung wahrscheinlich machen. Reaktionen II. Ordnung sind definitionsgemäß solche, deren Geschwindigkeit von der Konzentration zweier Reaktionspartner abhängt. Für

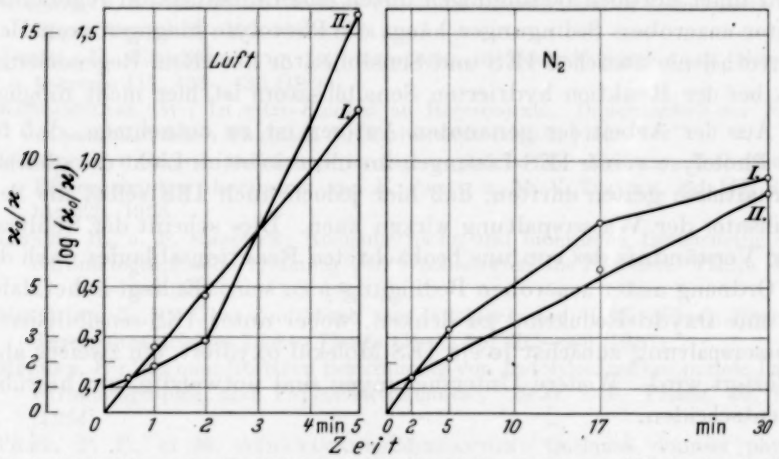


Abb. 6. Feststellung des Reaktionstyps auf Grund der Daten von Abb. 5. log (x_0/x) (I) bzw. x_0/x (II) in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit unter aeroben und anaeroben Bedingungen

Reaktionen II. Ordnung gilt unter Annahme gleicher Ausgangskonzentration der beiden Reaktionspartner der Ansatz:

$$v = -\frac{dc}{dt} = k \cdot c^2$$

woraus nach Umformung und Integration folgt:

$$-k \cdot t = \frac{1}{c_0} - \frac{1}{c}\,, \quad k \cdot t = \frac{1}{c_0}\left(\frac{c_0}{c} - 1\right).$$

Als einfaches Kriterium für einen Reaktionsablauf nach der II. Ordnung gilt:

$$c_0/c = c_0 \cdot k \cdot t + 1\,,$$

d.h. c_0/c muß eine Gerade ergeben, die für $t = 0$ wegen $c_0/c = 1$ die Y-Achse des Koordinatensystems in $+1$ schneidet. Dieses Kriterium ist für anaerobe Bedingungen erfüllt (Abb. 6, Kurvenzug II).

Wie gezeigt wurde, kann die Photolyse von IES im ultravioletten Licht sowohl unter aeroben wie unter anaeroben Bedingungen vor sich gehen. Der zeitliche Verlauf ist unter aeroben Bedingungen allein von

der IES-Konzentration abhängig, unter anaeroben Bedingungen zusätzlich von der Konzentration eines zweiten Reaktionspartners, über dessen Natur zunächst jeder Hinweis fehlt.

L. und M. BRAUNER fanden, daß die Photolyse riboflavinsensibilisierter IES-Lösungen mit einer photolytischen Spaltung von Wassermolekülen beginnt, wobei unter Hydrierung des Sensibilisators atomarer Sauerstoff frei wird, der die IES-Moleküle oxydiert. Der Sensibilisator wird unter aeroben Bedingungen durch den Luftsauerstoff regeneriert. Unter anaeroben Bedingungen hängt die Photolyse hingegen vom Mengenverhältnis zwischen IES und Sensibilisator ab. Eine Regenerierung des bei der Reaktion hydrierten Sensibilisators ist hier nicht möglich.

Aus der Arbeit der genannten Autoren ist zu entnehmen, daß für die Photolyse reiner IES-Lösungen im ultravioletten Licht die gleichen Verhältnisse gelten dürften, daß hier jedoch auch IES selbst als Sensibilisator der Wasserspaltung wirken kann. Dies scheint der Schlüssel zum Verständnis des von uns beobachteten Reaktionsablaufes nach der II. Ordnung unter anaeroben Bedingungen zu sein. Es liegt nahe, dabei an eine Oxydo-Reduktion zu denken, wobei unter IES-sensibilisierter Wasserspaltung zunächst je ein IES-Molekül oxydiert, ein zweites aber reduziert wird. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um hierüber zu entscheiden.

Summary

1. Auxin (IAA) destruction in ultraviolet light was studied *in vitro* using the Salkowski reaction.

2. The destruction shows a marked dependence on p_H of the solution. The maximum rate of photolysis was found at p_H 4,5 both for aerobic and anaerobic conditions. In the latter case, however, destruction is much slower. The obvious correlation between optimum p_H and the pK of IAA is pointed out.

3. Destruction under aerobic conditions follows a first order reaction, i.e. it is dependent on the concentration of IAA alone. Under anaerobic conditions a second order reaction is indicated. The theoretical implications are discussed.

Literatur

ALBAUM, H. G., and S. KAISER: The titration curves of 3-indole acetic, 3-indole propionic, and 3-indole butyric acids. Amer. J. Bot. **24**, 420—422 (1937).

ALBAUM, H. G., S. KAISER and H. A. NESTLER: The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indole acetic acid into nitella cells. Amer. J. Bot. **24**, 513—518 (1937).

BRAUNER, L.: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins I. Z. Bot. **41**, 291—341 (1953).

Brauner, L., u. M. Brauner: Untersuchungen über die Photolyse des Heteroauxins II. Z. Bot. **42**, 83—124 (1954).

Curry, G. M., K. V. Thimann and P. M. Ray: The base curvature response of avena seedlings to the ultraviolet. Physiol. Plantarum (Cph.) **9**, 429—440 (1956).

Fischer, A.: Über die papierchromatographische und papierelektrophoretische Trennung von Indolderivaten. Planta (Berl.) **43**, 288—314 (1954).

Galston, A. W.: Riboflavin-sensitized photooxydation of indole-acetic acid and related compounds. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **35**, 10—17 (1949).

Gordon, S. A., and R. P. Weber: Colorimetric estimation of indole-acetic acid. Plant Physiol. **26**, 192—195 (1951).

Jessel, U.: Ergebnisse von Ozonmessungen in Bestrahlungsräumen. Strahlentherapie **111**, 423—430 (1960).

Klingmüller, W.: In vitro-Studien an Heteroauxin. Diplomarbeit der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Gießen 1955.

Larsen, P.: Growth substances in higher plants. In: Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, herausgeg. von K. Paech u. M. V. Tracey, Bd. III, S. 565 bis 625. 1955.

Linser, H., u. F. Maschek: Kolorimetrische und biologische Bestimmung sowie chromatographische Trennung von Wuchsstoffen aus Pflanzen. Planta (Berl.) **41**, 567—588 (1953).

Melchior, G. H.: Über den Abbau von Indolderivaten. I. Mitteilung, Photolyse durch ultraviolettes Licht. Planta (Berl.) **50**, 262—290 (1957).

Müller, R.: Zur quantitativen Bestimmung von Indolylessigsäure mittels Papierchromatographie und Papierelektrophorese. Beitr. Biol. Pflanz. **30**, 1—32 (1954).

Pilet, P. E., et M. Athanasiades-Mercanton: Quelques données physicochimiques à propos de l'acide β-indolyl-acétique. Phyton **8**, 210—218 (1959).

Ray, P. M.: Destruction of auxin. Ann. Rev. Plant Physiol. **9**, 81—118 (1958).

Stowe, B. B., and K. V. Thimann: The paper chromatography of indole compounds and some indole containing auxins of plant tissues. Arch. Biochem. **51**, 499 (1954).

Tang, Y. W., and J. Bonner: The enzymatic inactivation of indole-acetic acid. I. Some characteristics of the enzyme contained in pea seedlings. Arch. Biochem. **13**, 11—25 (1947).

Dr. W. Klingmüller, Botanisches Institut der Universität Gießen, Bismarckstraße 16

Planta 55, 292—305 (1960)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn
(Direktor: Prof. Dr. H. Ullrich)

ÜBER DAS ZUSAMMENWIRKEN VON SICHTBARER UND INFRAROTER STRAHLUNG AUF DIE INDUKTION DER ÄHRENANLAGE VON *HORDEUM VULGARE*

Von
Margarete Muschik

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 30. April 1960)

I. Einleitung

Bei der Suche nach besseren und geeigneteren Lichtquellen für die Aufzucht von Pflanzen wurde Wert darauf gelegt, daß die Energie in der sichtbaren Region des Spektrums vornehmlich in den assimilatorisch wirksamen Bereichen gehoben und der Anteil infraroter Strahlen gesenkt oder praktisch ausgeschaltet würde. Erhöhte Wärmeeinstrahlung führt ja bekanntlich zu Übertemperaturen der Pflanzenorgane gegenüber der Umgebung und hat erhöhte Transpiration zur Folge. Durch die Entwicklung der Leuchtstofflampen konnte diesem Wunsche weitgehend Genüge getan werden. Denn nunmehr war es möglich, je nach der stofflichen Zusammensetzung der auf der Glasinnenwand der Lampen aufgetragenen fluorescenzfähigen Substanz, die durch eine im wesentlichen UV-Licht liefernde Hg-Entladung zur Lichtemission angeregt wird, ein verschiedenartiges Spektrum auszustrahlen und sogar Einfluß auf das Strahlungsmaximum zu nehmen. Da außerdem die Leuchtstofflampen sich gegenüber anderen Strahlungsquellen durch eine besonders hohe photometrische Lichtausbeute auszeichnen, die beispielsweise etwa 3mal so hoch ist wie die der Glühlampen, und ihre Wärmeproduktion verglichen mit Glühlampen gleicher Leistung äußerst gering ist, fanden sie rasch Eingang in Wissenschaft und Praxis.

Schon nach seinen ersten Untersuchungen mit diesen neuen Lampentypen, die Ullrich 1941 und 1942 für die Aufzucht von Pflanzen unter Ausschluß des Tageslichtes verwendete, machte er die Beobachtung, daß der Mangel an Wärmestrahlen Reifungsverzögerung bedingte. Amerikanische Wissenschaftler (Went 1957; A. P. Withrow und R. B. Withrow 1947; M. W. Parker und H. A. Borthwick 1950) stellten fest, daß bei Benutzung von vorwiegend im sichtbaren Bereich emittierenden Lampen wie Fluorescenzlampen, Quecksilberhochdrucklampen und Kohlenbogenlampen, Kulturen unter ausschließlichem Licht solcher

Strahlungsquellen dann den höchsten Ertrag brachten, wenn Glühlampenlicht zugeführt wurde. Dieser Effekt hat zweifellos nicht der geringe Lichtanteil der Glühlampen bewirkt, sondern geht auf Kosten der Strahlung im langwelligen Gebiet, also des Infrarots.

Um die Wirkung des Infrarots auf die Pflanze zu studieren, hatte bereits 1932 JOHNSTON eine Reihe von Untersuchungen durchgeführt. Er ließ die Strahlung einer Glühlampe eine 1,5 cm dicke Wasserschicht passieren und kultivierte Tomaten einmal in sichtbarer + infraroter Strahlung und zum anderen in nur sichtbarer Strahlung, die er bei gleicher Versuchsanordnung wie vorher + zusätzlichem UR-absorbierenden Filter (unterste Grenze 0,8 μ) erzielte. JOHNSTON fand eine sehr beachtliche Überschußernte bei den Pflanzen, die Infrarot-Strahlung erhalten hatten.

SMITH (1944) bediente sich ebenfalls des Wasserfilters, als er den Einfluß infraroter Strahlen auf Radieschen und Salat untersuchte. Dabei zeigte sich, daß bei Verwendung einer 5 cm hohen Wasserschicht das UR der Wellenlängen von 1,2 μ an aufwärts die Bildung der Blütenstengel sowohl bei Salat als auch Radieschen begünstigte und die Kopf- bzw. Knollenbildung verhinderte. Auf Grund seiner Versuchsergebnisse hält es auch SMITH für nicht ganz ausgeschlossen, daß das UR sich als günstig auf die Produktion organischer Substanz erweist.

Während in diesen Untersuchungen vorwiegend Hauptaugenmerk auf Reifungsvorgänge und Stoffproduktion gelegt wurde, finden wir in den Arbeiten von TAKIMOTO (1957a, b) die generative Entwicklung der Pflanzen in den Vordergrund des Interesses gerückt. Als Strahlungsquellen dienten ihm 20 und 60 W starke Glühlampen und außerdem Fluorescenzlampen (Mazda day-light fluorescent lamp und Mazda pink fluorescent lamp). Der Blüherfolg war bei den unter Glühlampenlicht kultivierten Langtagpflanzen *Silene armeria* weitaus größer als bei jenen unter dem Licht der Fluorescenzlampen. Unter Glühlampenlicht 60 W bei einer Beleuchtungsstärke von 70 f.c. blühten alle *Silene armeria*-Pflanzen. Bei Verwendung der lichtschwachen nur 20 W starken Glühlampen, wodurch die Helligkeit auf 30 f.c. herabgedrückt wurde, betrug der Prozentsatz der blühenden Pflanzen immer noch 88,9%. Im 200 f.c. hellen Lichtfeld der Fluorescenzlampen war die Blühreaktion unterschiedlich sehr groß, was durch die spektrale Verschiedenheit der beiden verwendeten Lampentypen bedingt war. Das Licht der Mazda day-light fluorescent lamp mit höherem Blau- aber niedrigerem Rotgehalt rief bei nur 4,2% Pflanzen einen Blüheffekt hervor, während unter der Mazda pink fluorescent lamp mit hohem Orange-Rotanteil (6000—6500 Å), die etwa unserer HNI-Leuchtstofflampe entspricht, bei 85,1% der Pflanzen Blütenbildung ausgelöst wurde. Obwohl die Beleuchtungsstärke des Glühlampenlichtes mit 60 W nicht einmal halb so groß war wie die der

Mazda pink fluorescent lamp 20 W, erwies sich dieses Licht doch in Bezug auf die Blütenbildung positiv wirksamer. TAKIMOTO (1957a) führt die niedrige Wirksamkeit der Fluorescenzlampe auf den Mangel an langwelliger (> als 6500 Å) Strahlung zurück und vermutete auf Grund der hohen Wirksamkeit des Glühlampenlichtes, daß die langwelligere Strahlung doch noch effektiver auf die Blüteninduktion sein könnte als 6500 Å, die BORTHWICK und PARKER (1950) als Lichtblitze mit höchster Wirksamkeit auf einige Langtag- und Kurztagpflanzen anwendete. Fluorescenzlampenlicht + Glühlampenlicht brachte stets einen 100%igen Blüherfolg.

Eine die Blütenbildung fördernde Wirkung stellte ja auch schon SMITH fest. Radieschen und Salat, unter ungefiltertem Glühlampenlicht aufgezogen, zeigten lediglich Anzeichen einer beginnenden Knollen- bzw. Kopfbildung, die sehr bald durch die Bildung von Blütenstengeln abgelöst wurde.

RÜGE (1958a, b), der auf breiter Basis Versuche mit Leuchtstofflampenlicht, dem auch Glühlampenlicht hinzugeschaltet worden war, durchgeführt hat, folgert aus seinen Ergebnissen, daß für die vegetative Entwicklung der Pflanzen in künstlichem Licht Dunkelrot und Infrarot zumindest nicht erforderlich sei, doch spricht er gleichzeitig die Meinung aus, daß die Voraussetzungen zur Einleitung der Blühphase etwas anders sein mögen.

Im Rahmen einer anderen Aufgabenstellung stießen wir ebenfalls auf das Problem der Infrarot-Strahlung. Da das Problem durchaus noch nicht gelöst ist und widersprechende Ergebnisse vorliegen, griffen wir es auf und haben versucht, mit Hilfe verschiedener Schott-Filter Einblick in die wechselseitige Beziehung zwischen sichtbarer und infraroter Strahlung zu bekommen. Wir entschieden uns deshalb für die Filter, weil uns damit die Möglichkeit gegeben war, nur einen Typ von Strahlungsquellen einzusetzen. Benutzt man zwei verschiedene Lichtquellen, dann liegt meistens schon in der sichtbaren Region eine so große spektrale Verschiedenheit vor, daß dadurch sich bereits Fehler einschleichen und das Endergebnis verwischen können.

II. Material und Methode

Die Versuche wurden, wie schon frühere Untersuchungen, mit Ackermanns Isaria-Gerste ausgeführt (MUSCHIK 1957 und 1959).

Die Anzucht der Keimpflanzen erfolgte in mit Erde gefüllten Reagensgläsern, wobei selbstverständlich nur gleichmäßig gekeimtes Material in den Versuch einbezogen wurde. Um ein Stagnieren des Gießwassers zu verhindern, wurde bei allen verwendeten Reagensgläsern der Boden mit einer Abflußöffnung versehen, die mit Iporka, einem wasserdurchlässigen Isoliermaterial der Fa. Grünzweig und Hartmann, Mannheim-Ludwigshafen, verstopft und mit etwa 2 cm³ Sand überschichtet worden war. Bei der Auswertung der Versuche wurde die Entwicklung des Vege-

tationskegels bzw. die embryonale Inflorescenz als Kriterium herangezogen. Der Entwicklungsgrad war mittels einer quantitativen 12stufigen Skala erfaßt worden (Muschik 1957). Als Lichtquellen dienten Glühlampen 200 W. Über die benutzten Schott-Filter BG 10, BG 22, KG 3 und RG 8 soll bei den jeweiligen Versuchen näher eingegangen werden. Alle Untersuchungen wurden bei konstanter Temperatur und gleicher relativer Luftfeuchtigkeit in einem Klimaraum durchgeführt.

III. Versuche und Ergebnisse

1. Einfluß der transmittierten Strahlung des BG 10- und RG8-Filters sowie ungefilterter Strahlung einer Glühlampe auf die Entwicklung von *Hordeum vulgare*. Die Durchlässigkeit des von uns benutzten BG 10-Filters bei einer vorgegebenen Stärke von 3 mm ist aus dem Kurvenverlauf in Abb. 1 ersichtlich. Die kurzwellige Grenze von BG 10 liegt bei 334 mμ. Bei 420 mμ werden 54% der nicht reflektierten Strahlung hindurchgelassen und im Wellenlängenbereich 480 bis 500 mμ liegt die maximale Durchlässigkeit mit 68%. Bei 700 mμ sind es nur noch 25%. Dann fällt die Durchlaßkurve langsam aber stetig weiterhin ab und erreicht bei 1050 mμ mit 13% ihren Tiefpunkt, um danach noch einmal zu einem Maximum bei 2400 mμ mit 20% anzusteigen. Die im Bereich 1—3 μ durchgelassene Strahlung wurde weitgehendst von einer 5 cm hohen Aqua dest.-Schicht, in die die Filterplatte eingebettet lag, absorbiert und somit das kurzwellige vom langwelligen Infrarot abgetrennt. Nach Kohlrausch (1951) absorbiert eine 1 cm dicke Wasserschicht in dem Wellenlängenbereich 1 μ 35% bzw. bei 1,25 μ 71% der einfallenden Strahlung.

Da die Absorption des Infrarot mit der Temperatur des Wassers sich verändern kann, und ferner die Gefahr besteht, daß bei stärkerer Erwärmung des Glasbodens das Glas als sekundäre Strahlungsquelle fungieren kann, wurde darauf geachtet, daß die Bildung eines Wärmestaus über der Wasserschicht unterbunden wurde, was mit Hilfe eines entsprechend starken Ventilators geschah.

Die Durchlässigkeit des RG 8-Filters setzt von der kurzwelligen Seite her gesehen erst bei 644 mμ ein. Es folgt ein linearer ziemlich steiler Anstieg der Durchlässigkeit. Im Wellenlängenbereich von 850 mμ bis 1450 mμ beträgt die durchgelassene Strahlung 100%. Sie sinkt dann allmählich bis 2600 mμ ab, um danach rasch auf 34,8% bei 3000 mμ zu fallen.

Alle Gerstenpflanzen standen vom Tage des Saataufganges an unter dem BG 10 gefiltertem Licht im 18 Std-Tag. Während nun ein Teil der Pflanzen weiterhin dieses Licht ausschließlich erhielt, wurde der andere täglich von 8—13 Uhr 10 Tage lang entweder der Strahlung, die das RG 8-Filter durchließ, oder der nichtgefilterten Strahlung des Glühlampenlichtes ausgesetzt. Die Gersten waren, als sie dieser Behandlung erstmalig unterworfen wurden, 6, 8, 10 und 12 Tage alt. Im Anschluß daran erhielten alle Pflanzen bis zu einem Alter von 22 Tagen wiederum nur das gefilterte BG 10-Licht. Es standen also die bei Behandlungsbeginn 6 Tage alten Pflanzen noch weitere 8 Tage, die entsprechend älteren Pflanzen demnach nur noch weitere 6, 4 bzw. 2 Tage unter dem BG 10-gefilterten Licht.

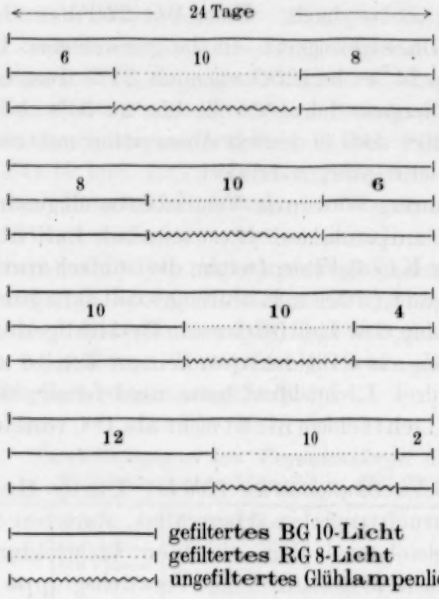
Bei der Frage, ob die Untersuchungen unter energiegleicher Strahlung oder unter gleichen Helligkeitsverhältnissen durchgeführt werden sollten, entschlossen wir uns für letzteres mit folgender Begründung: Das BG 10-Filter läßt, wie die Durchlaßkurve zeigt, außerhalb des

sichtbaren Bereiches also von 800 mμ an aufwärts bis 1150 mμ außerordentlich wenig Strahlung durch (bei 800 mμ sind es 5%, bei 1150 mμ nur noch 1,8%). Die emittierte Strahlung einer Glühlampe setzt sich aber bekanntlich aus etwa 10% sichtbarer und 90% ultraroter Strahlung zusammen. Es würde also in dem einen Falle dieser Strahlenbereich im Minimum, im anderen — erinnert sei an die 1-gipfelige Kurve der spektralen Energieverteilung einer Glühlampe mit dem Maximum im Ultrarot — im Maximum vorliegen. Würde man nun beide Lichtfelder auf Energiegleichheit abstimmen wollen, so könnte das nur auf Kosten des sichtbaren Strahlenbereiches gehen. Ferner muß man, wie schon SMITH (1944) betonte, bei Untersuchungen über den Einfluß des IR den sichtbaren Bereich als konstanten Faktor wählen und die Quantität des Infrarot variieren. Das veranlaßte uns, die Beleuchtungsstärke mit Hilfe des Lux-Meters festzulegen. Unter dem gefilterten und ungefilterten Glühlampenlicht erhielten die Pflanzen etwa 1200 lx. Unter dem RG 8-Filter wurde in Höhe des Reagensglasrandes 560 lx gemessen. Höhere Beleuchtungsstärken zu erzielen, erschienen uns hier etwas riskant. Bei diesem Filter können nämlich infolge Temperaturerhöhungen die Absorptionskanten sich verschieben und außerdem auftretende innere Spannungen zum Springen der Filterplatte führen.

Da in verhältnismäßig geringem Abstand über dem Filter eine im Reflektor verschraubte 200 W-Glühlampe hing, mußte auch hier ein Ventilator eingesetzt werden, der die über der Filterfläche sich ständig erwärmende Luft beseitigte. Die Temperatur auf der Filteroberfläche wurde laufend durch ein daraufliegendes Thermometer kontrolliert. Die Filterplatte lag auf der Stirnseite eines Lichtkastens, der mit Stanniolpapier ausgekleidet und lichtdicht verschlossen war. Da dieses RG 8-Filter zwischen 775 mμ und 2600 mμ 90—100%ig die Strahlung durchläßt, muß es zwangsläufig zu einer beachtlichen Temperaturerhöhung in dem Lichtkasten kommen. Um dem zu begegnen, wurde der Kasten so vor das Klimagerät aufgestellt, daß die ausströmende Kaltluft den Kasten „umspülte" und durch 2 vor Lichteinfall geschützte Schlitze auch den Kasten durchströmte. Es war damit eine Art Kaminwirkung geschaffen worden, so daß nunmehr, wie ein im Kasten in Höhe der Pflanzen aufgehängtes Thermometer zeigte, auch hier Temperaturverhältnisse herrschten, die denen der beiden anderen Lichtfelder entsprachen. Das ist unter anderem eine Voraussetzung, die unbedingt eingehalten werden muß, wenn Aussagen über die Lichteinwirkung gemacht werden sollen, da der Temperaturfaktor in der generativen Entwicklung der Pflanzen eine nicht minder bedeutende Rolle spielt wie das Licht.

Nach 24 Tagen wurde der Entwicklungszustand der Vegetationskegel festgestellt (s. Tabelle 1). Dabei zeigte sich, daß die Pflanzen, die während der ganzen Versuchsdauer unter dem BG 10-Filter gestanden hatten, in allen 4 Serien einen niedrigeren Entwicklungsgrad aufwiesen als jene, denen 10 Tage lang täglich 5 Std eine höhere Dosis kurz- und langwelliges Infrarot geboten worden war. Ein merklicher Unterschied zwischen den RG 8-bestrahlten und den ungefiltertem Glühlampenlicht ausgesetzten Pflanzen besteht eigentlich nicht. Wohl läßt ein Vergleich des Ent-

Tabelle 1. *Entwicklungsgrad der Vegetationskegel von Isaria-Gerste unter ungefiltertem, BG 10- und RG 8-gefiltertem Glühlampenlicht*

Schema der Lichtbehandlung	Vegetationskegel-durchschnittlicher Entwicklungsgrad
	
24 Tage	
	3,0
6 10 8	3,7
	3,7
	3,0
8 10 6	3,8
	4,1
	3,0
10 10 4	3,9
	3,6
	3,8
12 10 2	4,5
	4,6
gefiltertes BG 10-Licht	
gefiltertes RG 8-Licht	
ungefiltertes Glühlampenlicht	

wicklungszustandes der Vegetationskegel innerhalb der Reihen der RG 8-bestrahlten Pflanzen die Tendenz erkennen, daß mit zunehmendem Alter die jungen Pflanzen stärker auf die IR-Strahlung anzusprechen scheinen. Doch sind die Unterschiede in diesem Versuch nicht markant genug, als daß der Befund genügend gesichert wäre. In der vierten Serie liegen alle Entwicklungsgrade der Vegetationskegel zwar etwas höher als in den vorangegangenen Serien, doch lassen sich die Entwicklungsstadien ohne weiteres in das Gesamtergebnis einordnen.

2. Versuche mit gefiltertem Glühlampenlicht mit BG 10-, BG 22- und KG 3[1]-Schott-Filtern. Entscheidend bei der Wahl dieser 3 verschiedenen Filter war der unterschiedlich hohe Anteil an durchgelassener UR-Strahlung im Bereich bis λ 1250 mμ. KG 3 läßt bereits ab 302 mμ 5,85% der nicht reflektierten Strahlung durch. Es folgt dann eine rasche Zunahme der durchgelassenen Strahlung bis 340 mμ. Die Durchlässigkeit beträgt hier bereits 70%. Zwischen 405 und 640 mμ weisen KG 3

[1] Hierbei handelt es sich nach Auskunft des Jenaer Glaswerk Schott & Gen. Mainz um ein hochwertiges optisches Farbglas.

und BG 22 nur um wenige Prozente voneinander abweichende Transmissionsgrade auf, und zwar läßt BG 22 in diesen Wellenlängenbereichen etwas mehr Strahlung durch als KG 3. Bei 630 mμ transmittieren beide Filter 74%. Von da ab aber nimmt die Durchlässigkeit des KG 3-Filters rasch ab und läßt — wenn man von den 0,17% bei 2,4 μ absieht — von 850 mμ ab keine Strahlung mehr durch. Beim BG 22-Filter dagegen erfolgt die Abnahme der Durchlässigkeit im längerwelligen Bereich langsamer, so daß bei 850 mμ 24%, bei 1250 mμ noch 21% transmittiert werden. Die Strahlung im fernen Infrarot, die bis zu 56% bei 2,4 μ ansteigt, wird wie beim Filter BG 10 durch Absorption mittels einer 5 cm hohen Wasserschicht sehr stark reduziert.

In allen 3 Lichtfeldern waren wiederum Ventilatoren eingesetzt, die auch hier die durch das Glühlampenlicht sich erwärmende Luft über den Wasserbecken bzw. über den KG 3-Filterplatten, die einfach nur einem in der Größe der Platten zugeschnittenen Rahmengestell auflagen, rasch beseitigten. Bei der Aufstellung der Lichtfelder war Bedacht genommen, daß die ungefilterte Strahlung der Glühlampen keinen Zutritt zu dem gefilterten Licht eines der drei Lichtfelder hatte und ferner, daß die Temperatur in den einzelnen Lichtfeldern nicht mehr als 1° C voneinander abwich.

a) Versuche bei gleicher Beleuchtungsstärke 1200 lx. Um die Resultate der vorausgegangenen Untersuchungen zu überprüfen, starteten wir die ersten Versuchsreihen bei gleicher, in den einzelnen Lichtfeldern aufeinander abgestimmten Beleuchtungsstärke. Die Versuchsgruppe erhielt nur sichtbare Strahlung (KG3-Filter) und die Kontrolle sichtbare + UR-Strahlung (BG 22). Die Pflanzen unter BG 10 erhalten weitaus weniger UR als die unter BG 22, aber doch mehr als die unter KG 3. In Tabelle 2 wird an einer der herausgegriffenen Versuchsserien der

Tabelle 2. *Entwicklungsgrad der Vegetationskegel von Isaria-Gerste nach 22tägiger Kulturdauer unter den Filtern BG 22, BG 10 und KG 3*

Filter	Zahl der präparierten Pflanzen	Vegetationskegel — durchschnittlicher Entwicklungsgrad	Blätter				
			Zahl	durchschnittliche Länge in cm			
BG 22	52	4,8	4	16,1	31,6	38,5	11,1
BG 10	52	3,3	4	16,7	31,8	34,7	10,1
KG 3	52	2,6	4	15.1	30,4	33,3	0,5

mikroskopische Befund der Vegetationskegelentwicklung und die Zahl und Länge der entfalteten Blätter wiedergegeben. Die Versuche sind 3mal wiederholt worden und zeigten übereinstimmende Resultate.

Die Pflanzen unter dem KG 3-Filter sind in ihrer Entwicklung entschieden weiter zurück als die unter BG 22, sowohl was die Blattlänge,

besonders die des vierten Blattes, als auch den Entwicklungsgrad des Vegetationskegels anbelangt. Die Blätter waren zudem, was in der Tabelle nicht festgehalten ist, schmäler als die unter BG 22 und BG 10. Unter BG 22 waren sie am breitesten. Die Vegetationskegel sind bei den Gersten unter KG 3 immer sehr zart.

Werden die Pflanzen nach 22tägiger Versuchsdauer im Klimaraum noch für weitere 10 Tage im Gewächshaus unter natürlichen sommerlichen Tageslichtbedingungen kultiviert, dann ändert sich im Prinzip nichts. Die Gersten unter BG 22 mit dem großen Entwicklungsvorsprung bleiben an der Spitze und werden von den Pflanzen aus den beiden Lichtfeldern BG 10 und KG 3 nicht eingeholt.

Da der Entwicklungsgrad der Vegetationskegel verhältnismäßig niedrige Werte aufwies und von manchen Autoren erst das Doppelringstadium (= double ridges) als Beginn der Inflorescenzbildung angesehen wird (vgl. hierzu MUSCHIK 1957), haben wir in einem weiteren Versuch die Kulturdauer auf 36 Tage ausgedehnt, und die Aufzucht der Pflanzen in größeren Tontöpfen ⌀ 13 cm durchgeführt. Das Ergebnis ist in Tabelle 3 zusammengefaßt.

Tabelle 3. *Entwicklungsgrad der Vegetationskegel von Isaria-Gerste nach 36tägiger Kulturdauer unter den Filtern BG 22, BG 10 und KG 3*

Filter	Zahl der präparierten Pflanzen	Vegetationskegel — durchschnittlicher Entwicklungsgrad	Blätter				
			Zahl	durchschnittliche Länge in cm			
BG 22	52	10,8	4	[1]	35,0	35,0	27,3
BG 10	52	7,9	4	[1]	32,7	29,4	24,8
KG 3	52	6,4	4	[1]	30,1	27,6	25,0

[1] Das erste Blatt wurde nicht mehr gemessen, da es größtenteils schon vertrocknet war.

Die Gersten in allen Lichtfeldern sind aus dem „kritischen" Stadium, nach unserer Bonitierskala Stadium 6, heraus. Unter dem BG 22-Filter haben wir einen durchschnittlichen Entwicklungsgrad von 10,8, der besagt, daß es bereits zur Ausdifferenzierung der Hüllspelze gekommen ist. Die Gersten unter BG 10 lassen die wulstartig hervorstehenden „Ährchenprimordien", also die Anlage der achselständigen Seitenäste der Inflorescenz erkennen, und die Vegetationskegel der Gersten unter KG 3 sind im Doppelringstadium (= double ridges). Dieser Befund bestätigt somit die Richtigkeit der in früheren Versuchen aufgefundenen Werte.

b) Versuche bei gleicher Strahlungsintensität 8400 erg/cm² sec. Bei dieser Versuchsanordnung treten 2 *variable* Faktoren auf: Einmal die *sichtbare Region*, die im Maximum unter KG 3 vorliegt, die aber keinesfalls mehr im Maximum unter BG 22 vorliegen kann, weil ja durch die

Energiemessung nunmehr auch die transmittierte infrarote Strahlung miterfaßt worden ist, und zum anderen der *infrarote Bereich*, der unter KG 3 fehlt und unter BG 22 vorhanden ist. Dadurch wird es aber unmöglich, eine exakte Aussage über den Infrarot-Einfluß zu machen. Wenn wir dennoch einen solchen Versuch starteten, so taten wir dies aus folgendem Grund: Man findet immer wieder in der Literatur Intensitäts- und Helligkeitsmessungen gleichzeitig angewandt. Kann und darf man, ohne Trugschlüsse zu ziehen, bei Benutzung verschiedenartiger Lichtquellen einmal in lux, ein andermal in erg bzw. cal. messen? Obwohl in unserem Versuch die sichtbare Region keine prinzipiellen Verschiedenheiten in der spektralen Energieverteilung aufweist, was im Hinblick auf das Ergebnis nicht unwesentlich sein dürfte, wie der Leuchtstofflampen-Versuch von TAKIMOTO ja eindeutig demonstrierte, machte sich die bei der Energiemessung erfaßte Infrarotstrahlung stärker auf die Entwicklung der Pflanzen geltend und bestimmte das Ergebnis. In der nachfolgenden Tabelle wird ein ausgewerteter Versuch wiedergegeben.

Die Strahlungsintensität wurde mit dem Vakuum-Thermoelement Type D der Pyro-Werke (Hannover) in Verbindung mit dem Multiflex-Galvanometer MGO der Fa. B. Lange (Berlin) ermittelt.

Tabelle 4. *Entwicklungsgrad der Vegetationskegel von Isaria-Gerste nach 22tägiger Kulturdauer unter den Filtern BG 22, BG 10 und KG 3*

Filter	Zahl der präparierten Pflanzen	Vegetationskegel — durchschnittlicher Entwicklungsgrad	Blätter			
			Zahl	durchschnittliche Länge in cm		
BG 22	52	6,0	3	15,3	30,3	36,3
BG 10	52	3,0	3	14,8	28,2	31,4
KG 3	52	1,3	3	15,2	27,9	20,6

Während unter dem BG 22-Filter die Vegetationskegel im Doppelringstadium sich befinden, haben wir unter dem KG 3-Filter Vegetationskegel, die im ersten Stadium nach der Streckung des Vegetationspunktes sind. Die Spanne zwischen diesen beiden Entwicklungsgraden ist weitaus größer als wir sie je in Versuchen, die auf gleiche Beleuchtungsstärke abgestimmt waren, vorgefunden haben. Es zeigt sich also bereits hier, trotz großer Übereinstimmung der spektralen sichtbaren Region, was nochmals betont sei, daß es zu fehlerhaften Resultaten kommen muß bzw. die Resultate mit großem Vorbehalt aufgenommen werden müssen, wenn beide Meßmethoden gleichzeitig in Versuchen angewendet werden, in denen mit Lichtquellen gearbeitet wird, die entweder vorzugsweise nur im sichtbaren Bereich oder noch zusätzlich im infraroten Bereich abstrahlen.

IV. Diskussion

Aus den dargestellten Versuchsergebnissen geht eindeutig hervor, daß für die Entwicklung der Gerstenpflanzen das transmittierte Licht des KG 3-Filters durchaus nicht so günstig ist, wie auf Grund der Durchlaßkurve vielleicht hätte erwartet werden können. Es wird heute besondere Betonung auf bestimmte Spektralbereiche gelegt, die nicht nur der CO_2-Assimilation und den reizphysiologischen Prozessen, sondern auch den entwicklungsphysiologischen Vorgängen genügen sollen. Von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet sollen einmal die verwendeten Filter an Hand der Durchlaßkurve miteinander verglichen (Abb. 1) und die erhaltenen Ergebnisse diskutiert werden.

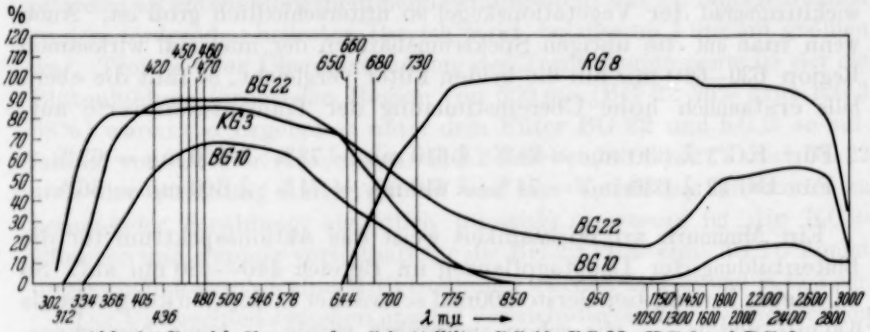


Abb. 1. Durchlaßkurven der Schott-Filter BG 10, BG 22, KG 3 und RG 8

Grüne Pflanzenorgane zeigen bekanntlich im orangeroten Wellenlängenbereich maximale photosynthetische Aktivität. Bei 660 mμ lassen BG 22 und KG 3 annähernd gleichviel Strahlung durch, im ersteren Falle sind es 66%, im letzteren 63%, also eine kaum nennenswerte Differenz der Durchlässigkeit, in der sich die beiden Filter voneinander unterscheiden. Nach HOOVER (1937) wird ein zweites, wenn auch nicht gleich großes Maximum im violettblauen Bereich 420—470 mμ erwartet. Auch hier ist die Differenz der von diesen beiden Filtern durchgelassenen Strahlung minimal. Bei λ 420 mμ läßt KG 3 5% weniger Strahlung durch als BG 22 und bei 470 mμ beträgt die Differenz 4%. Einschränkend muß erwähnt werden, daß nach den Untersuchungen von GABRIELSEN (1948) die spektrale Photosynthesekurve für grüne Laubblätter eingipfelig ist, und daß ein schrittweises Absinken der Wellenlängenwirkung vom orangeroten zum blauvioletten Ende des Spektrums gefunden wurde. Nach diesem Autor besteht die Möglichkeit des Auffindens eines zweiten Maximums nur dann, wenn eine niedrige Chlorophyllkonzentration in fahlgrünen Blättern vorliegt.

Betrachtet man den Bereich 450—480 mμ, der reizphysiologische Prozesse beeinflußt, dann zeigt die Gegenüberstellung der Transmissionswerte der beiden Filter BG 22 und KG 3 auch in dieser Region

nahezu Übereinstimmung. 6 bzw. 4% niedriger verläuft die Durchlaßkurve des KG 3-Filters bei 450 bzw. 480 mμ.

Von besonderem Interesse für unsere Untersuchungen sind die Spektralbereiche, die entwicklungsphysiologische Vorgänge steuern. Nach dem von BORTHWICK, HENDRICKS und PARKER (1948) aufgestellten photoperiodischem Aktionsspektrum für *Hordeum vulgare* var. „Wintex", eine Langtag-Wechselgerste, ist 650 mμ die wirksamste Spektrumsbande für die Induktion der Ährenanlage. Bei 650 mμ beträgt die Differenz der Durchlässigkeit der Filter BG 22 und KG 3 lediglich 2%. Es ist wohl kaum anzunehmen, daß diese 2% letztlich verantwortlich sein sollten dafür, daß unter KG 3 und BG 22 der Entwicklungsgrad der Vegetationskegel so unterschiedlich groß ist. Auch wenn man auf die übrigen Spektrumsbanden der maximal wirksamen Region 630—660 mμ hin die beiden Filter vergleicht, so fällt die ebenfalls erstaunlich hohe Übereinstimmung der Transmissionswerte auf:

Für KG 3: λ 630 mμ = 74%; λ 640 mμ = 72%; λ 660 mμ = 63%
Für BG 22: λ 630 mμ = 74%; λ 640 mμ = 71%; λ 660 mμ = 66%

Ein Minimum an Wirksamkeit weist das Aktionsspektrum für die Blütenbildung der Langtagpflanzen im Bereich 440—480 mμ auf. So soll dieser Bereich bei Gerste 300mal schwächer in der Wirkung sein als 650 mμ und da — wie schon ausgeführt wurde — keine bemerkenswerten Unterschiede in der Durchlässigkeit beider Filter zwischen 440 und 480 mμ vorliegen, wird die Wirkung dieser Region niemals bestimmend in das Ergebnis eingegriffen haben können.

DOWNS (1956) untersuchte die Wirkung von Rot- und Trübrot-Strahlung auf die Blütenbildung bei 2 Kurztag- und 2 Langtagpflanzen. Wird die induktive Dunkelperiode der Kurztagpflanzen durch Rot-Strahlung für kurze Zeit in der Mitte der Dunkelperiode unterbrochen, dann kommt es zu keiner Blütenbildung; folgt jedoch der Rot-Strahlung eine Trübrot-Strahlung nach, so werden Blüten induziert. Dies sei an Xanthium dargestellt, die DOWNS als Untersuchungsobjekt verwendete:

	Entwicklungsstadien der Inflorescens					
Dunkelkontrolle	6	6	6	6	6	6
Rot	0	0	0	0	0	0
Rot-Trübrot	5	4	3	4	5	4
	5	3	4	5	5	5

Anders liegen die Verhältnisse bei Langtagpflanzen. Dort ruft Trübrot-Strahlung in der Mitte der nichtinduktiven Dunkelperiode geboten, die umgekehrte Wirkung hervor. Die Ergebnisse, die DOWNS an Wintex barley erzielte, sollen wiedergegeben werden:

	Durchschnittlicher Entwicklungsgrad
Kontrolle	2,3
Rot	6,7
Rot-Trübrot	3,2

Der hemmende Einfluß der Trübrot-Strahlung kommt in dem niedrigen Entwicklungsgrad der embryonalen Inflorescenz zum Ausdruck.

Diese Resultate stehen in gewissem Widerspruch mit unseren Resultaten. Der mikroskopische Befund bestätigte uns in allen Versuchen, daß die transmittierte Strahlung des BG 22-Filters offensichtlich für die Induktion der Ährenanlage am vorteilhaftesten war, obwohl der Anteil an durchgelassener „Trübrot"-Strahlung bei λ 730 mμ, der sich für Langtagpflanzen als entwicklungshemmend herausgestellt hat und antagonistisch zu dem fördernden hellroten Bereich wirkt, bei diesem Filter am größten war. Trotz großer Übereinstimmung der Transmissionswerte in der die Blütenbildung fördernden Region von 650 mμ (BG 22 70% und KG 3 68%) waren die Ergebnisse unter dem Filter BG 22 und KG 3 so auffallend voneinander verschieden. KG 3 läßt bei 730 mμ 27% und BG 22 46% der Strahlung durch. Somit war das Verhältnis fördernder zu hemmender Strahlung eigentlich günstiger gewesen für die KG 3-Pflanzen und weniger vorteilhaft für die BG 22-Pflanzen. BG 10 nimmt diesbezüglich in etwa eine Mittelstellung zwischen BG 22 und KG 3 ein.

Der Unterschied zwischen unserer Versuchsdurchführung und der von Downs besteht nun darin, daß Downs die Rot- + Trübrot-Strahlung als Unterbrechung der Dunkelperiode anwendete. Als Lichtblitze, während der Dunkelphase den Pflanzen geboten, wirken sich diese Spektralbereiche offenbar anders auf das entwicklungsphysiologische Geschehen aus, als wenn sie als fördernde bzw. hemmende Wellenlängenregion Bestandteile eines kontinuierlichen Spektrums sind und gleichzeitig mit den übrigen Spektrumsbanden zur Wirkung kommen. Es wäre auf Grund unserer Resultate aber auch noch in Erwägung zu ziehen, ob nicht im fernen Infrarot Spektralbezirke bei der Einleitung der Blühphase mitwirken könnten. Denn nicht nur unter BG 22, sondern auch unter BG 10 wiesen die Vegetationskegel einen Entwicklungsvorsprung auf gegenüber denen unter KG 3. KG 3 läßt ab 850 mμ, wenn man von den 0,17% bei 2400 mμ absieht, gar keine Strahlung mehr durch. Die Durchlaßkurven von BG 22 und BG 10 aber weisen 2 sehr kleine, unterschiedliche Maxima im fernen Infrarot auf, die von dem Wasserfilter nicht vollständig ausgeschaltet werden. Takimoto (1957b) folgert aus seinen Ergebnissen in einer weiteren Studie mit Fluorescenzlampen- und Glühlampenlicht, daß für eine positive blütenfördernde Wirkung für *Silene armeria* (LTP), Licht relativ langer Wellenlängen erforderlich sei. Auch die Ergebnisse unseres ersten Versuches wären anders schlecht erklärbar. Denn die Pflanzen, die nur 11 Std die BG 10-gefilterte

+ 5 Std die RG 8-gefilterte Strahlung erhalten hatten, waren weiter in der Entwicklung als jene Gersten, die 16 Std der BG 10-gefilterten Strahlung ausgesetzt gewesen waren. RG 8 läßt bei λ 650 mμ der wirksamsten Spektrumsbande nur 16%, bei λ 730 mμ der hemmenden Region aber 74% der Strahlung durch. Dieser Strahlenbereich wäre demnach doch recht ungünstig gewesen, und man hätte eher mit einem niedrigen Entwicklungsbefund bei der mikroskopischen Präparation rechnen müssen. Das war ja aber nicht der Fall, so daß auch hier der Hinweis darauf gegeben ist, daß außerhalb dieser Region liegende Spektralbezirke in entwicklungsphysiologische Vorgänge eingreifen könnten. Untersuchungen in dieser Richtung sollen zur weiteren Klärung beitragen; denn es scheint, daß die Höhe der Intensität im Infrarot zur Intensität im sichtbaren Bereich eine Rolle dabei spielt. Vielleicht liegt darin der Schlüssel, um das „Für und Wider" der Infrarot-Strahlung zu lösen.

Zusammenfassung

1. Mit Hilfe von Schott-Filtern verschieden hoher Infrarot-Durchlässigkeit wird der Einfluß bzw. das Zusammenwirken von sichtbarer und Infrarot-Strahlung auf entwicklungsphysiologische Vorgänge an *Hordeum vulgare*, Ackermanns Isaria-Gerste, untersucht.

2. Die Filter KG 3 und BG 22 weisen bei einer bestimmten Schichtdicke in den für assimilatorische, reizphysiologische und entwicklungsphysiologische Prozesse entscheidenden Spektralbereichen weitgehende Übereinstimmung der Transmissionswerte auf. KG 3 läßt ab 850 mμ keine Strahlung mehr durch. BG 22 transmittiert darüber hinaus auch noch IR. Zwischen 1,8 und 2,7 μ kommt es zu einem kleineren Strahlungsmaximum.

3. Für die Entwicklung der Gersten ist die Strahlung des Filters BG 22 offensichtlich besser als die von KG 3.

4. Untersuchungen, bei energiegleicher Strahlung durchgeführt, bringen ebenfalls schlechtere blüteninduktive Entwicklung unter KG 3. Die Spanne zwischen den einzelnen Entwicklungsstadien der Vegetationskegel, die als Kriterium herangezogen worden sind, ist hier aber sehr viel größer als in den vorgenannten Versuchen, die auf gleiche Helligkeit abgestimmt waren.

5. Filter BG 10 mit einem sehr viel kleineren Strahlungsmaximum als BG 22 bei etwa 2,4 μ ist trotz seiner geringeren Durchlässigkeit in der maximal wirksamen Region für die Induktion der Ährenanlage dem Filter KG 3 überlegen, jedoch nicht so günstig wie BG 22.

6. Die unter den einzelnen Filtern gewonnenen Resultate werden unter Berücksichtigung der für die Blütenanlage wirksamen fördernden und hemmenden Spektralregion diskutiert.

7. Die Versuchsergebnisse sprechen dafür, daß die langwellige IR-Strahlung nicht ohne Einfluß auf die Induktion der Ährenanlage ist, und es wird vermutet, daß die Höhe der Intensität zu der im sichtbaren Teil des Spektrums maßgeblich daran beteiligt sein dürfte.

Literatur

Borthwick, H. A., S. B. Hendricks and M. W. Parker: Action spectrum for photoperiodic control of floral initiation of a long day-plant, wintex barley *(Hordeum vulg.)*. Bot. Gaz. **110**, 103—118 (1948).

Borthwick, H. A., M. W. Parker and S. B. Hendricks: Reproduction in plants. Recent developments in the control of flowering by photoperiod. Amer. Naturalist **84**, 117 (1950).

Downs, R. J.: Photoreversibility of flower initiation. Plant Physiol. **31**, 279—284 (1956).

Gabrielsen, E. K.: Influence of light of different wave-lengths on photosynthesis in foliage leaves. Physiol. Plantarum (Cph.) **1**, 113—123 (1948).

Hoover, W. H.: The dependence of the carbon dioxyde assimilation in a higher plant on wave length of radiation. Smiths. Misc. Coll. **95**, (21), 1—13 (1937).

Johnston, E. S.: Some effects of near infra-red radiation on plants. Smiths. Misc. Coll. **87**, Nr 14 (1932).

Kohlrausch, F.: Praktische Physik, 19. Aufl. Stuttgart: B. G. Teubner 1951.

Muschik, M.: Entwicklungsmorphologische Studien am Vegetationskegel von *Hordeum distichum* (Ackermanns Isaria-Gerste) in Abhängigkeit von Tageslänge und Lichtintensität. Planta (Berl.) **49**, 598—606 (1957).

Muschik, M.: Bedeutung von Größe und Alter der Blätter für die photoperiodische Blüteninduktion. Planta (Berl.) **53**, 575—594 (1959).

Parker, M. W., and H. A. Borthwick: Influence of light on plant growth. Ann. Rev. Plant Physiol. **1**, 43—58 (1950).

Ruge, U.: Neue Erkenntnisse zum Wachstumsfaktor Licht. Vortrag. Bund d. Dipl.-Gärtner. 5 wiss. Arbeitstagg Hannover. 1958a.

Ruge, U.: Die lichtphysiologischen Grundlagen der Pflanzenbeleuchtung. Angew. Bot. **32**, 207—220 (1958b).

Smith, F.: Orienterende Undersøkelser over inflydelsen av infra-rød stråhlung på plantene. I. Meld. norg. Landbrukshøgsk. **24**, 69—144 (1944).

Takimoto, A.: Photoperiodic induction in *Silene armeria* as influenced by various light sources. Bot. Mag. (Tokyo) **70**, 312—321 (1957a).

Takimoto, A.: Two processes involved in the light period of inductive photoperiodic cycles in *Silene armeria*. Bot. Mag. (Tokyo) **70**, 321—326 (1957b).

Ullrich, H.: Zur Frage der Entwicklung der Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. I. Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 6 (1941).

Ullrich, H.: Zur Frage der Entwicklung der Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. II. Mitt.: Über weitere Versuche mit Osram-Leuchtstofflampen, insbesondere bei höherer Beleuchtungsintensität. Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 152—178 (1942).

Went, F. W.: The experimental control of plant growth. Waltham Mass, USA 1957.

Withrow, A. P., and R. B. Withrow: Plant growth with artificial sources of radiant energy. Plant Physiol. **22**, 494—513 (1947).

Dr. Margarete Muschik, Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität, Bonn a. Rh., Meckenheimer Allee 176

Planta 55, 306—312 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München und der Station zoologique de l'Université de Paris in Villefranche-sur-Mer

DIE PHOTOSYNTHESE VON MEERESPFLANZEN IN IHRER BEZIEHUNG ZUM SALZGEHALT

Von

FRITZ GESSNER und LIESELOTTE HAMMER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Juni 1960)

Einleitung

Im Jahre 1931 veröffentlichte MONTFORT zwei kurze vorläufige Mitteilungen über „Assimilation und Stoffgewinn der Meeresalgen bei Aussüßung und Rückversalzung". Zur Untersuchung gelangten 6 Arten von Braunalgen und je 3 Arten von Rot- und Grünalgen aus der Nord- und Ostsee. Diese wurden sukzessive in verschiedene Stufen verdünnten Ostseewassers überführt, die durch Mischung mit Bach- bzw. Leitungswasser hergestellt worden waren. Hinsichtlich des assimilatorischen Verhaltens fand MONTFORT 4 Typen, einen „Depressionstypus", bei dem die Aussüßung des Mediums mit einer irreversiblen Leistungsdepression verbunden war, einen „Stimulations-Depressionstypus", bei dem eine Verdünnung des Meerwassers zunächst zu einer Leistungssteigerung führte, die dann zu einer Funktionshemmung führte, wobei sich wiederum unterscheiden ließ, ob diese rasch oder langsam eintrat und reversibel oder irreversibel war. Schließlich wurde ein „resistenter Typus" beschrieben, bei dem die Überführung aus Meerwasser in Süßwasser zu keiner Leistungssenkung führte. MONTFORT betont jedoch, daß es nicht möglich sei, für eine Algenart *eine* bestimmte Salzkurve aufzustellen, da sich je nach der Dauer des Aufenthaltes in den einzelnen Konzentrationsstufen fast beliebig viele Salzkurven gewinnen lassen. Die einander widersprechenden Befunde von LEGENDRE (1921) und FROMAGEOT (1923) mögen hierin begründet sein. Die Vielfalt der Reaktionstypen, deren Deutung noch durch die ungenau definierten Versuchsbedingungen erschwert wird, wie sie vielen Arbeiten MONTFORTS anhaften, und die ausschlaggebende Bedeutung des Zeitfaktors bei solchen Versuchen mögen die Ursache dafür sein, daß das Interesse an diesem Problem erlahmte, denn in den letzten 30 Jahren sind zu dieser Frage kaum mehr Untersuchungen durchgeführt worden, und auch MONTFORT selbst hat seine Arbeiten auf diesem Gebiet nicht weitergeführt.

Die Fragestellung, welche der vorliegenden Arbeit zugrunde liegt, unterscheidet sich grundsätzlich von jener, mit der MONTFORT und seine Vorgänger an das Problem der Salzwirkung auf die Photosynthese herantraten. Gemäß der ökologischen Basis, die für ihn Ausgangspunkt seiner Versuche war, arbeitete MONTFORT mit *langfristigen* Expositionen in den einzelnen Meerwasserkonzentrationen, wobei die Algen jeweils einen Tag in jeder Verdünnungsstufe verblieben und der Gesamtversuch sich bis zu einer Woche ausdehnte. Daß hierdurch die Möglichkeit zum Auftreten mannigfacher Sekundärwirkungen gegeben ist, bedarf keiner

Begründung. Im Gegensatz hierzu arbeitetenwir mit kurzfristigem, 15 bis 20 min betragendem Wechsel zwischen Meer- und Süßwasser bzw. den entsprechenden Mischungen zwischen beiden. Es konnte hierbei ein sehr bemerkenswertes Verhalten aufgezeigt werden, das bisher offenbar unbekannt geblieben ist.

Pflanzenmaterial und Methode

Die Untersuchungen wurden mit der marinen Potamogetonacee *Posidonia oceanica* und der marinen Chlorophycee *Ulva lactuca* durchgeführt, das Material stammte aus der Bucht von Villefranche sur mer an der südfranzösischen Küste. *Posidonia* bildet hier auf weichem Untergrund ausgedehnte unterseeische Wiesen in Wassertiefen zwischen etwa 3 und 40 m. Dieses „Seegras" ist somit *die* Blütenpflanze, die am tiefsten in das Wasser hinabsteigt und somit weit unempfindlicher gegen den hydrostatischen Druck ist als andere Phanerogamen (Ferling 1957, Gessner 1959). Das Fehlen von luftgefüllten Intercellularen in den Blättern mag vielleicht zu dieser Unempfindlichkeit beitragen. *Ulva lactuca* besiedelt den Fels des obersten Litorals und erträgt bekanntlich zeitweises Trockenliegen bei niedrigem Wasserstand. Die beiden Versuchspflanzen sind also nicht nur hinsichtlich ihrer systematischen Stellung, sondern auch im Hinblick auf ihre ökologischen Ansprüche extrem verschieden. Um so bemerkenswerter ist die völlige Übereinstimmung ihres physiologischen Verhaltens hinsichtlich der Beziehung zwischen Photosynthese und Salzgehalt.

Blatt- bzw. Thallusstücke dieser beiden Pflanzen wurden in Glasflaschen mit einem Inhalt von etwa 120 cm^3 gebracht, die mit Mittelmeerwasser, Leitungswasser oder Mischungen zwischen beiden gefüllt waren. Die Flaschen wurden zu zweit in ein kleines Glasaquarium gestellt, das ständig mit Wasser durchspült wurde, so daß die Temperatur auf 22,2° C gehalten werden konnte. An den beiden gegenüberliegenden Breitseiten des Aquariums wurden zwei 150-Watt-Lampen aufgestellt, wobei die Entfernung der beiden Lampen voneinander nur 15 cm betrug. Die Beleuchtungsstärke, der die Pflanzen ausgesetzt waren, betrug 15000 Lux und darf als optimal bezeichnet werden. Die Verdünnung des Meerwassers erfolgte absichtlich nicht mit dest. Wasser, da sich hierdurch die CO_2-Verhältnisse allzusehr verschoben hätten, sondern mit Leitungswasser. Dieses hatte einen p_H von 7,86, eine Leitfähigkeit ($\varkappa_{18} \cdot 10^{-6}$) von 380 und eine Alkalinität (SBV) von 1,4. Hieraus errechnet sich ein Gesamtgehalt an CO_2 (einschließlich des Bicarbonats) von etwa 70 mg/l gegenüber einem Wert von 90 mg/l für das Meerwasser. In beiden Fällen darf also das CO_2-Angebot als optimal bezeichnet werden. Die unten dargestellten Unterschiede in der photosynthetischen Leistung können also keinesfalls auf Unterschieden im CO_2-Angebot beruhen. Die Dauer der Einzelexpositionen betrug in der Regel 20 min, eine Versuchsserie dauerte einige Stunden, das Verhalten der Pflanzen in noch längeren Perioden wurde nicht untersucht.

Da jede Versuchsserie mit dem gleichen — identischen — Pflanzenmaterial durchgeführt wurde, erübrigte es sich, die Assimilationswerte — angegeben in cm^3 n/100 $Na_2S_2O_3$ — auf irgendeine Einheit zu beziehen. (Ausnahme bei Abb. 3.)

Versuchsergebnisse

A. *Posidonia oceanica*. In Abb. 1 ist eine Versuchsserie dargestellt, in der Blattstücke dieser Pflanze — unter sonst genau gleichen Bedingungen — abwechselnd in Meerwasser von 38‰ Salzgehalt und in Leitungswasser („O“ ‰-Salzgehalt) assimilierten. Wird die Pflanze aus Meerwasser (M) in Süßwasser (S) gebracht, so sinkt die Leistung augenblicklich von sehr hohen positiven zu gering negativen Werten ab, eine Rückführung in Meerwasser wird ebenso schnell mit einer Erhöhung der apparenten Assimilation beantwortet, wobei allerdings — innerhalb der Beobachtungszeit — die Anfangswerte zumeist nicht erreicht werden. Bei einer neuerlichen Übertragung in Süßwasser sinkt die photosynthetische Rate wiederum bis fast auf Null ab. Dieses Verhalten wurde bei mehrfacher Wiederholung des Versuches immer wieder gefunden. Wechselt bei 20 min Expositionsdauer Meerwasser und Süßwasser als Milieu, so reagiert die Pflanze in ihrer assimilatorischen Leistung fast mit der gleichen Präzision, wie auf Ein- und Ausschalten des Lichtes (Abb. 2).

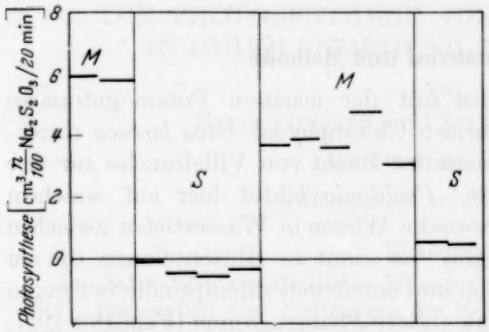


Abb. 1. Photosynthetische Leistung von *Posidonia oceanica*, gemessen in Perioden von 20 min bei 15000 Lux im Wechsel zwischen Meerwasser (M) (Salzgehalt etwa 38‰) und Süßwasser (S)

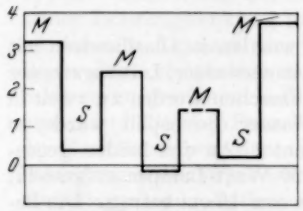


Abb. 2. Photosynthetische Leistung von *Posidonia oceanica* bei raschem Wechsel zwischen Meer- und Süßwasser. Bezeichnungen wie in Abb. 1. Die gestrichelte Linie deutet an, daß dieser Wert etwas unsicher erscheint

In weiteren Versuchsreihen wurde geprüft, wie verschiedene Mischungen zwischen Meer- und Süßwasser die Photosynthese beeinflussen. In Tabelle 1 ist ein Versuch dargestellt, in dem die Pflanzen zunächst in Meerwasser assimilierten, dann in ein Gemisch aus gleichen Teilen Meer- und Süßwasser übertragen wurden, hierauf in reines Süßwasser überführt und schließlich in reines Meerwasser rückversetzt wurden.

Wir sehen, daß in Meerwasser, das zur Hälfte mit Leitungswasser verdünnt ist, noch hohe Assimilationsleistungen möglich sind und eine Depression bis zu geringsten Werten erst in reinem Leitungswasser auftritt. Von hier in reines Meerwasser zurückgeführt, erholt sich die Pflanze bald und weist nach $1^1/_2$ Std wieder fast normale Assimilationswerte auf.

Tabelle 1. *Photosynthetische Leistung* (cm^3 *n*/100 $Na_2S_2O_3$/20 min) *in aufeinanderfolgenden 20 min-Perioden*

Meerwasser	3,3	4,4	4,8			
Meerwasser + Leitungswasser (1:1) . . .	3,7	3,3	3,0			
Leitungswasser	0,25	0,7	0,5			
Meerwasser	1,6	2,7	2,8	3,5	4,0	4,0

In einer weiteren Versuchsserie wurde geprüft, wieviel Prozent der Assimilationsleistung in reinem Meerwasser *Posidonia* in verschiedenen Verdünnungsstufen erreicht. Zu diesem Zweck wurde die Leistung von Blattstücken zunächst in reinem Meerwasser geprüft, worauf die Übertragung in die entsprechende Verdünnungsstufe erfolgte. Die Assimilationsrate in der ersten 20-min-Periode wurde in Prozent der Leistung in reinem Meerwasser ausgedrückt. Im Gegensatz zu den übrigen Versuchen stellt Abb. 3 also das Ergebnis der Assimilationsleistung *verschiedener* Blattstücke dar. Bezugsgröße ist — wie erwähnt — immer die Leistung in reinem Meerwasser. Wir sehen, daß bei zunehmender Verdünnung des Meerwassers mit Leitungswasser die Leistung zunächst langsam und dann rasch absinkt[1]. Dabei ist aber, wie auch Tabelle 1 erkennen läßt, jedem Verdünnungsgrad eine bestimmte Leistung zugeordnet, die für die Dauer der Untersuchungszeit (etwa 1 Std) annähernd konstant bleibt.

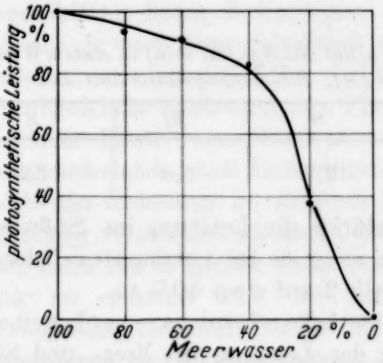


Abb. 3. Photosynthetische Leistung von *Posidonia oceanica* in verschiedenen Verdünnungsstufen des Meerwassers (100% in der Abszisse bedeutet hier unverdünntes Meerwasser). Die Leistung im Meerwasser wurde gleich 100 gesetzt (Ordinate)

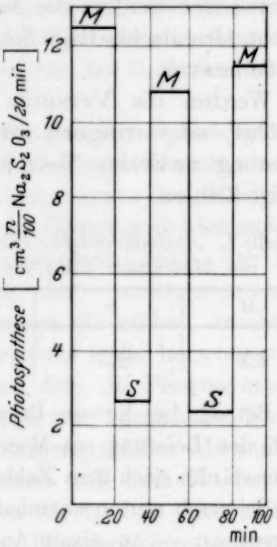


Abb. 4. Photosynthetische Leistung von *Ulva lactuca* im raschen Wechsel zwischen Meerwasser und Süßwasser. Die Versuchsanordnung entspricht genau der Abb. 2

[1] Es muß darauf hingewiesen werden, daß in dieser Versuchsreihe aus Zeitmangel in jeder Verdünnungsstufe nur *eine* Assimilationsbestimmung durchgeführt werden konnte. Über den Streuungsbereich der Werte kann also nichts ausgesagt werden.

B. *Ulva lactuca*. Hier sei zunächst ein Versuch geschildert, der genau dem in Abb. 2 an *Posidonia* ausgeführten entsprach, also die Leistung bei 20 min Exposition im Wechsel zwischen Meerwasser und Süßwasser prüfte (Abb. 4). Auch hier sehen wir, daß bei Überführung in Leitungswasser sofort eine starke Depression erfolgt, wenngleich hier die Assimilation immer noch auf gewisser Höhe bleibt. Nach Rückführung in Meerwasser werden die Ausgangswerte in fast voller Höhe wieder erreicht, eine nachhaltige Schädigung des Süßwassers tritt nur in geringem Maße hervor.

Werden die Versuche bei geringerer Beleuchtungsstärke durchgeführt, so verringern sich die Unterschiede in der assimilatorischen Leistung zwischen Meer und Süßwasser. Tabelle 2 belegt dies durch einige Zahlen.

Tabelle 2. *Assimilatorische Leistung (cm^3 n/100 $Na_2S_2O_3$/20 min) in stetem Wechsel von Meerwasser (M) und Süßwasser (S), Beleuchtungsstärke 300 Lux*

M	*S*	*M*	*S*	*M*	*S*
6,3	2,3	5,7	2,3	5,8	2,2

Betrug bei hoher Beleuchtungsstärke die Leistung im Süßwasser 23% der Leistung im Meerwasser, so stieg sie bei verringerter Beleuchtungsstärke nach den Zahlen in Tabelle 2 auf etwa 40% an.

Bei noch weiter verminderter Lichtstärke scheint es — nach weiteren Versuchen — zu einer Angleichung der Leistung im Meer- und Süßwasser zu kommen, doch genügt unser Zahlenmaterial nicht, dies einwandfrei zu belegen.

Jedenfalls wird bei abnehmender Beleuchtungsstärke nur die Assimilationsrate im Meerwasser, nicht aber die im Süßwasser gesenkt, ein Befund, dem einige Bedeutung bei der Kausalerklärung der Leistungsdepression zukommen dürfte.

Diskussion

Als Ergebnis der soeben geschilderten Versuche stellen wir fest, daß Blätter von *Posidonia oceanica*, die unter optimalen Lichtbedingungen intensiv assimilieren, ihre photosynthetische Rate in reversibler Weise augenscheinlich bis in die Nähe des Nullwertes (oder darunter) absenken, wenn sie aus Meerwasser in Leitungswasser überführt werden. Trotz optimalen Licht-Temperatur- und CO_2-Bedingungen vermag die Pflanze hier kaum mehr mit positiver Bilanz zu assimilieren.

Ähnlich, wenn auch nicht in so krasser Weise, verhält sich *Ulva lactuca*, deren Leistung sich bei Überführung in Süßwasser ebenfalls augenblicklich senkt, und zwar bis auf Werte, die etwa 23% der Optimalleistung entsprechen. Auch diese Depression ist weitgehend reversibel.

Eine endgültige Erklärung dieses auffallenden Verhaltens kann heute noch nicht gegeben werden. Zunächst ist man versucht, an eine Atmungs-

steigerung bei Aussüßung zu denken, die bei Meeresalgen seit langem bekannt ist (HOFFMANN 1929) und auch bei *Posidonia* nachgewiesen werden konnte. Nach eigenen Versuchen betrug der Sauerstoffverbrauch einiger Blätter hier innerhalb von 2 Std im Meerwasser 0,36 mg O_2, nach Überführung in Leitungswasser 0,56 mg O_2. Trotz dieses erheblichen Unterschiedes ist klar, daß durch die Atmungssteigerung die apparente Assimilation bei weitem nicht jene krasse Depression erleiden könnte, wie sie festgestellt worden ist. Tatsächlich dürfte hier die Atmungssteigerung — infolge der viel geringeren Intensität der O_2-Aufnahme — überhaupt nicht ins Gewicht fallen.

Das Auffallendste ist das überaus rasche Reagieren des photosynthetischen Apparates auf Änderungen des Salzgehaltes und die weitgehende Reversibilität dieser Änderungen. Man gewinnt daraus den Eindruck, daß sich je nach dem Salzgehalt verschiedene Gleichgewichtszustände einstellen, die für die Höhe der Leistung maßgebend sind. Der fast augenblickliche Stillstand der Photosynthese, der eintritt, wenn man *Posidonia*-Blätter aus Meerwasser in Süßwasser überführt, macht es unwahrscheinlich, daß Änderungen im *Inneren der Zelle*, hervorgerufen durch die Änderung im äußeren Ionenmilieu, für die Photosynthesehemmung verantwortlich sind. Die Permeation von Ionen oder Wasser tritt nicht mit so großer Schnelligkeit ein, daß ein solcher Momentaneffekt zu erwarten wäre. Als Arbeitshypothese soll deshalb die Vermutung ausgesprochen werden, daß durch den Wechsel im Außenmilieu Änderungen im *Quellungszustand der äußeren Wandschichten* auftreten, welche ihrerseits die Permeation des CO_2 beeinflussen bzw. blockieren. Für die Richtigkeit dieser Vorstellung spricht auch der Versuch an *Ulva* bei schwachem Licht, denn wenn die Permeationsgeschwindigkeit des CO_2 der begrenzende Faktor ist, muß sich der Unterschied in der Leistung zwischen Meer- und Süßwasser verringern, wenn die photosynthetische Rate aus anderen Gründen, also z. B. herabgesetzter Beleuchtungsstärke, vermindert ist. Daß im übrigen an den Wandschichten der *Posidonia*-Blätter im Süßwasser Änderungen auftreten, läßt sich bereits mit bloßem Auge erkennen, da die Blätter sich hier einzurollen beginnen, ein Effekt, der bei Rückversetzung in Meerwasser sofort verschwindet.

Es bedarf kaum der Erwähnung, daß das hier aufgezeigte Phänomen in mehrfacher Weise sowohl physiologische als auch ökologische Fragen aufwirft.

Zusammenfassung

Werden Blattstücke von *Posidonia oceanica* oder Thallusteile von *Ulva lactuca* unter sonst optimalen Assimilationsbedingungen aus Meerwasser in Süßwasser überführt, so sinkt hier die apparente Assimilation bei *Posidonia* bis zu Null oder gar zu negativen Werten ab, bei *Ulva* bis zu etwa 23% der Leistung im Meerwasser. Bei Rückführung in Meerwasser wird die Assimilationsrate ebenso schnell wieder erhöht, die

Ausgangswerte werden allerdings innerhalb der Versuchszeit — einige 20-min-Perioden — meist nicht in voller Höhe wieder erreicht.

Folgt der Wechsel zwischen Meer- und Süßwasser im Wechsel von 20 min, so reagieren die Versuchspflanzen mit der gleichen Präzision wie auf das Aus- und Einschalten einer Lichtquelle.

Wird an *Posidonia* die photosynthetische Rate in verschiedenen Stufen verdünnten Meerwassers (Verdünnung nicht mit dest. Wasser, sondern mit Leitungswasser von bekanntem Bicarbonatgehalt und p_H) bestimmt und in Prozenten der Leistung in Meerwasser ausgedrückt, so ergibt sich die in Abb. 3 dargestellte Kurve. Innerhalb der Versuchszeit scheint jeder Meerwasserkonzentration ein bestimmter Photosynthesewert zugeordnet zu sein, ein Verhalten, das auf das Vorhandensein von Gleichgewichtszuständen hindeutet, die zwischen dem photosynthetischen System und dem Zustand des Außenmediums bestehen.

Infolge der überaus raschen Reaktion der Pflanzen auf Änderungen im Außenmedium wird als Arbeitshypothese die Vermutung ausgesprochen, daß an der Änderung der photosynthetischen Rate bei Übertragung in und Rückführung aus Süßwasser in Meerwasser nicht Zustandsveränderungen im *Zellinneren*, sondern Zustände der Membranen verantwortlich sind, welche das Ausmaß der CO_2-Permeation bestimmen und damit einen begrenzenden Faktor der Photosynthese darstellen.

Unser Dank gilt dem Vicedirektor der Station zoologique in Villefranche-sur-Mer, Herrn Bougis. In einem Laboratorium dieser Station wurde der Großteil der hier dargestellten Versuche durchgeführt.

Literatur

Ferling, E.: Die Wirkung des erhöhten hydrostatischen Druckes auf Wachstum und Differenzierung submerser Blütenpflanzen. Planta (Berl.) **49**, 235—270 (1957).

Fromageot, C.: Influence de la concentration en sels de l'eau de mer sur l'assimilation des algues vertes. C. R. Acad. Sci. Paris **177**, 779—780 (1923).

Gessner, Fr.: Hydrobotanik, Bd. II., Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften 1959.

Hoffmann, C.: Die Atmung der Meeresalgen und ihre Beziehung zum Salzgehalt. Jb. wiss. Bot. **71**, 214—268 (1929).

Legendre, R.: Influence de la salinité de l'eau de mer sur l'assimilation chlorophyllienne des algues. C. R. Soc. Biol. (Paris) **85**, 222—224 (1921).

Montfort, C.: Assimilation und Stoffgewinn der Meeresalgen bei Aussüßung und Rückversalzung. I. Phasen der Giftwirkung und die Frage der Reversibilität. II. Typen der funktionellen Salzeinstellung. Ber. dtsch. bot. Ges. **49**, (49) — (58)—(66) (1931).

Prof. Dr. Fritz Gessner,
München 19, Menzinger Straße 67, Botanisches Institut der Universität

Dr. Lieselotte Hammer, Cumaná (Venezuela), Avenida Gran Mariscal 45,
Instituto Oceanografico (Universidad de Oriente)

Planta 55, 313—326 (1960)

Aus dem Staatsinstitut für Allgemeine Botanik und Botanischer Garten, Hamburg

DER ABSCHUSSRHYTHMUS DER FRUCHTKÖRPER VON *SPHAEROBOLUS STELLATUS* (THODE) PERS.

Von

INGEBORG FRIEDERICHSEN und HORST ENGEL

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. Juni 1960)

Einleitung

Frühere Untersuchungen hatten ergeben, daß der Pilz *Sphaerobolus stellatus* im 12:12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel seine Gleben immer nur während der Lichtstunden abschießt, und daß das Licht des vorangegangenen Tages die Abschüsse auslöst (FRIEDERICHSEN u. ENGEL 1957). Damals blieben viele Fragen offen. Wie z. B. sieht die tägliche Abschußkurve aus, und wie reagiert der Pilz, wenn die Länge der Licht-Dunkel-Perioden geändert wird? Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich hauptsächlich mit diesen Fragen. Von ihrer Beantwortung hofften wir einen weiteren Einblick in den Abschußmechanismus des Pilzes zu bekommen.

Methodik

Pilzstamm, Nährboden und Anzucht waren die gleichen wie früher. Nur dienten als Kulturgefäße jetzt 100 ml fassende, 8 cm hohe Bechergläser ohne Ausguß, die zur Verhinderung seitlichen Lichteinfalls mit schwarzer PVC-Folie umwickelt waren. Die Gefäße wurden fast bis zum Rand mit Nähragar gefüllt und dann beimpft. Während der Anzucht des Pilzes im dunklen Brutschrank standen die Bechergläser in feuchten Kammern. Sobald die Agaroberfläche vom Mycel gleichmäßig bewachsen war, kamen die Kulturen zur Anlage und Entwicklung der Fruchtkörper in den 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Sie wurden zu dem Zweck in den Keller unter eine 250-Watt-HPL-Lampe gebracht. Da die Temperatur nicht über 25° C steigen durfte, wurden die Kulturen in Cüvetten gestellt, durch die dauernd Leitungswasser strömte. Erwärmte sich die Luft über den Mycelien auf 20° C, wurde auch zwischen Lampe und Kulturen eine Kühlcüvette aus Plexiglas angebracht. Sobald die Fruchtkörper reif waren, erkennbar an den ersten Abschüssen, kamen die Kulturen in die eigentliche Versuchsanordnung.

Der wichtigste Teil war ein durchsichtiges Laufband (*L*) aus PVC (Abb. 1), unter dem die Bechergläser (*B*) mit den reifen Kulturen standen, und gegen das die Pilze ihre Gleben abschießen konnten. Wegen ihrer klebrigen Beschaffenheit blieben die Gleben zum weitaus größten Teil an der Folie haften. Das Laufband wanderte über 2 Trommeln, deren eine (*TK*) mit der Achse eines Klinostaten verbunden war. Mit Hilfe eines elektrischen Kontaktwerkes (Firma Firchow, Berlin) wurde der Klinostat zu Beginn einer jeden Stunde für mehrere Sekunden in Betrieb gesetzt. Während dieser Zeit bewegte sich das Laufband um eine Strecke weiter, die etwas größer war als der Durchmesser der Kulturgefäße. Das Band war durch Markierungsstriche in 24 entsprechende Abschnitte geteilt. So war es möglich,

die zu jeder Stunde abgeschossene Zahl der Gleben auszuzählen. Regelmäßig nach 24 Std mußten die am Fließband klebenden Sporenballen durch ein feuchtes Tuch entfernt werden.

Über der oberen Hälfte des Fließbandes war die 250-Watt-HPL-Lampe (*R*) aufgehängt, und zwar so, daß die Beleuchtungsintensität unmittelbar über dem Mycel etwa 5500—6000 Lux betrug (~1410 μWatt/cm²). Später erhielt die Lampe noch einen Reflektor (Radaltiefstrahler), wodurch die Beleuchtungsintensität bei

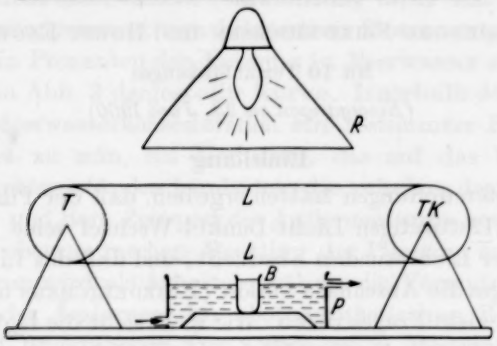


Abb. 1. Apparatur zur automatischen Registrierung der Sporangiolen-Abschüsse von *Sphaerobolus stellatus*. *B* Becherglaskultur; *P* Plexiglascuvette; *T* Trommel; *TK* ebenso, mit Anschluß an Klinostat; *L* Laufband; *R* Reflektor mit Lampe

gleichem Objektabstand auf etwa 22000 Lux erhöht wurde (~4770 μWatt/cm²). Die Steuerung des Licht-Dunkel-Rhythmus erfolgte automatisch durch eine elektrische Schaltuhr.

Ergebnisse

1. Die Wirkung verschieden langer Licht-Dunkel-Perioden

a) 12:12 Std Licht-Dunkelwechsel. Mit Hilfe der Registrierapparatur ließ sich zeigen, daß die Abschußtätigkeit des Pilzes unter den gegebenen Bedingungen fast stets in der 2.—3. Lichtstunde begann, in der 4. bis 5. Lichtstunde ihr Maximum hatte und in der 8.—9. Lichtstunde aufhörte. Das Maximum fiel also in die erste Hälfte der Lichtperiode (Abb. 2). Bemerkenswert war ferner die meist asymmetrische Form der täglichen Abschußkurve. Die Zahl der abgeschossenen Sporenballen stieg schnell zum Maximum an, fiel dann aber meist etwas langsamer wieder ab. Dies deutet darauf hin, daß die *Auslösung* des Abschußmechanismus durch das Licht für alle gerade abschußbereiten Fruchtkörper gleichzeitig erfolgt, der *Ablauf* der zum Abschuß führenden Reaktionen aber bei einem Teil der Fruchtkörper länger andauert als bei der Mehrzahl.

Wurde in den Rhythmus statt einer Licht- eine Dunkelperiode eingeschoben (Rhythmus also 12:12:12:12:12:12:12:12 . . .), schleuderten die Fruchtkörper auch während des außerplanmäßigen „Dunkeltages" ihre Sporangiolen gegen das Laufband ab (Abb. 3). In der folgenden

Lichtperiode kam es dann zu keiner Abschußtätigkeit. Erst in der übernächsten Lichtperiode setzte der Abschußrhythmus wieder ein, und zwar

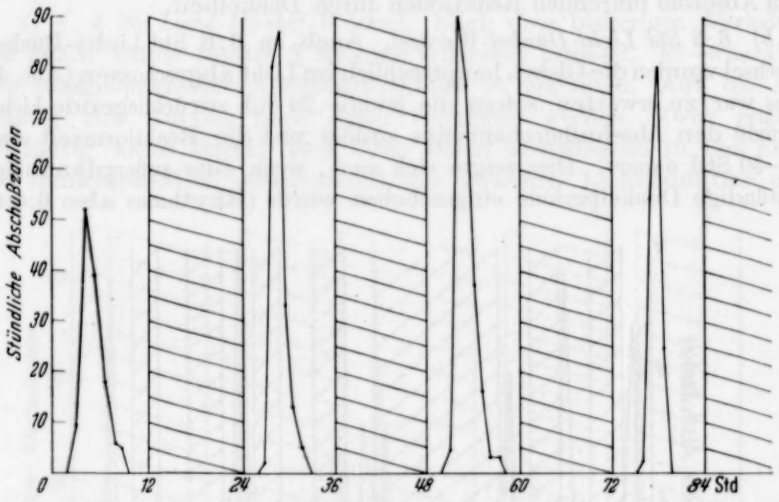


Abb. 2. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel

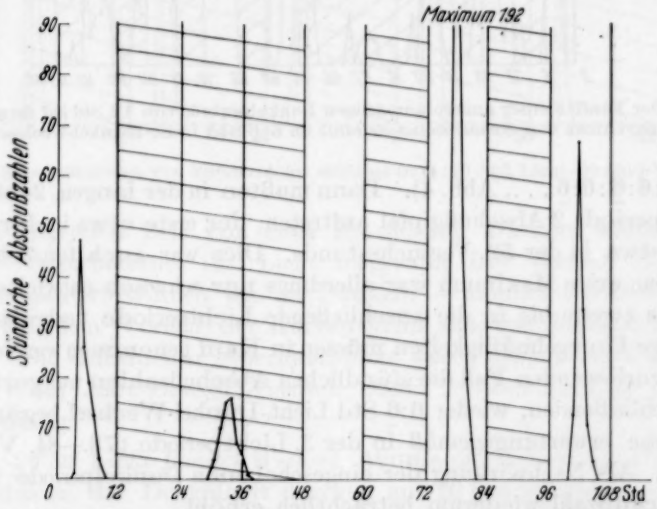


Abb. 3. Der Einfluß einer außerplanmäßigen Dunkelperiode von 12 Std auf den Abschußrhythmus von *Sphaerobolus stellatus* im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel

mit einer sehr hohen Abschußzahl. Damit konnten wir unsere Beobachtungen von 1957 bestätigen, wonach die Abschüsse in einer gegebenen Lichtperiode durch das Licht der vorangegangenen ausgelöst werden. Es zeigte sich jedoch während der außerplanmäßigen Dunkelperiode eine

Verspätung des Abschußbeginnes um etwa 3 Std gegenüber dem im normalen Lichttag. Daraus ergibt sich eine gewisse Verzögerung der zum Abschuß führenden Reaktionen durch Dunkelheit.

b) 6:6 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Auch im 6:6 Std Licht-Dunkel-Wechsel wurden die Gleben hauptsächlich im Licht abgeschossen (Abb. 4). Dies war zu erwarten, sofern die jeweils 24 Std zurückliegende Lichtperiode den Abschußmechanismus auslöst und die Reaktionszeit etwa 28—30 Std dauert. Dies zeigte sich auch, wenn eine außerplanmäßige 12stündige Dunkelperiode eingeschoben wurde (Rhythmus also 6:6:6:

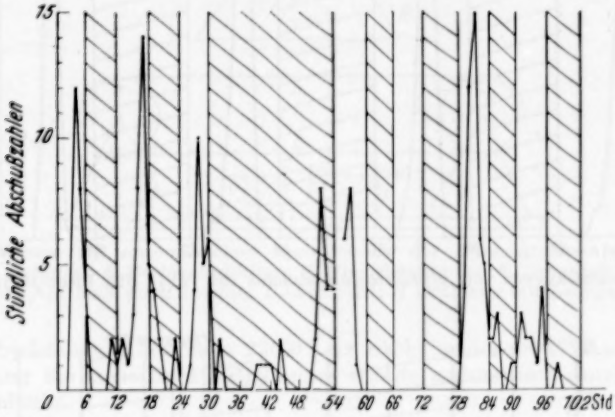


Abb. 4. Der Einfluß einer außerplanmäßigen Dunkelperiode von 12 Std auf den Abschußrhythmus von *Sphaerobolus stellatus* im 6:6 Std Licht-Dunkel-Wechsel

6:12:6:6:6:6:6 . . ., Abb. 4). Dann mußten in der langen, 24stündigen Dunkelperiode 2 Abschußgipfel auftreten, der erste etwa in der 40., der zweite etwa in der 52. Versuchsstunde. Dies war auch tatsächlich der Fall. Das erste Maximum war allerdings nur schwach entwickelt, während das zweite bis in die anschließende Lichtperiode verbreitert war. Derartige Unregelmäßigkeiten müssen in Kauf genommen werden, wenn wie im vorliegenden Fall die stündlichen Abschußzahlen nur gering sind. Im anschließenden, wieder 6:6 Std Licht-Dunkel-Wechsel begannen die Abschüsse erwartungsgemäß in der 3. Lichtperiode (78.—84. Versuchsstunde). Als Nachwirkung der eingeschobenen Dunkelperiode war hier die Abschußzahl wiederum beträchtlich erhöht.

Bemerkenswert ist, daß im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel täglich (pro 24 Std) etwa die gleiche Anzahl Gleben abgeschossen wurde wie im 6:6 Std-Cyclus.

c) 6:18 Std Licht-Dunkel-Wechsel. In Übereinstimmung mit den bisherigen Beobachtungen fand eine Abschußtätigkeit nur während der 6stündigen Lichtperioden statt. Sie fiel in deren zweite Hälfte und

dauerte etwa 3 Std. Sie begann etwa 27 Std nach Einsetzen des Lichtes der vorangegangenen Lichtperiode.

d) 4:4 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Nach dem bisherigen Verhalten des Pilzes hätten täglich 3 Maxima auftreten müssen. Es war aber kein ausgesprochener Abschußrhythmus zu erkennen. Auf die Abbildung der Kurven kann daher verzichtet werden. Zwar zeigten sie häufig kleine Gipfel, und diese fielen überwiegend in das Ende der Dunkelperioden, entsprechend der zwischen Lichtinduktion und

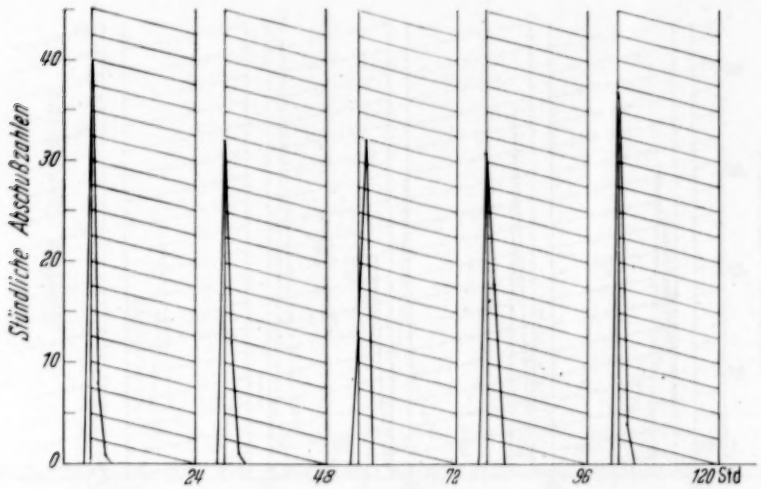


Abb. 5. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* im 4:20 Std Licht-Dunkel-Wechsel

Abschuß liegenden Zeit von etwa 28—30 Std. Da aber während der 5tägigen Versuchsdauer im Licht insgesamt fast ebenso viele Abschüsse registriert wurden wie im Dunkeln — nämlich 139 bzw. 156 — können aus dem Verlauf der Kurven keine sicheren Schlüsse gezogen werden. Die stündlichen Abschußzahlen waren zudem noch geringer als im 6:6 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Damit verloren auch die Maxima an Bedeutung.

e) 4:20 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Wurde die Belichtungsdauer auf 4 Std belassen, die Dunkelheit dagegen auf 20 Std ausgedehnt, traten wieder gut profilierte Maxima auf (Abb. 5). Die Abschüsse begannen wieder etwa 27 Std nach Beginn der vorhergehenden Lichtperiode, d. h. am Ende jener Lichtperiode, in der sie registriert wurden. Sie endeten meistens 2—3 Std später, so daß sehr kurze Abschußperioden zustande kamen. Es scheint, als ob die Dauer der Abschußtätigkeit mit kürzer werdenden Lichtperioden abnimmt. Die Tendenz dazu war schon im 6:18 Std Licht-Dunkel-Rhythmus erkennbar.

Vergleicht man mit dem 4:4 Std Licht-Dunkel-Cyclus, so ist festzustellen, daß es die Verkürzung der Dunkelperioden auf 4 Std ist, die den Abschußrhythmus zum Verschwinden bringt.

f) 3:3 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Es waren keinerlei Anzeichen einer periodischen Abschußtätigkeit mehr vorhanden. In den Dunkelperioden wurden während der Versuchsdauer von 4 Tagen insgesamt ebensoviel Sporangiolen forgeschnellt wie im Licht, nämlich 163 bzw. 161. Die Abschußtätigkeit nahm den gleichen Verlauf wie im Dauerlicht (s. Abschnitt k).

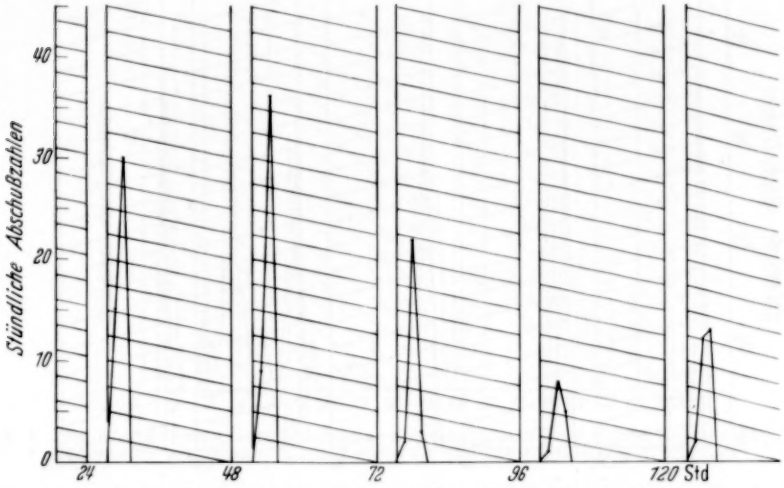


Abb. 6. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* im 2:22 Std Licht-Dunkel-Wechsel

g) 2:22 und 1:23 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Es zeigte sich das gleiche Bild wie im 4:20 Std Licht-Dunkel-Rhythmus: Trotz der weiteren Verkürzung der täglichen Belichtungszeiten bis auf 1 Std kam es zur Herausbildung gut ausgeprägter Abschußmaxima (Abb. 6). Die ersten Gleben wurden fast stets etwa 27 Std nach Beginn der vorangegangenen Lichtperiode abgeschnellt. Alle Abschüsse fielen wegen der Kürze der Lichtperioden in die Dunkelheit. Diese Versuche haben somit eindeutig ergeben, daß das Fehlen eines Abschußrhythmus bei den kurzfristigen Licht-Dunkel-Perioden (4:4, 3:3 Std) seine Ursache in den zu kurzen Dunkelabschnitten haben muß, während die Verkürzung der Lichtperioden keinen Einfluß hat.

h) Belichtung täglich 15, 10, 7½, 5, 2 und 1 min sowie 15 und 5 sec. Selbst die Verkürzung der täglichen Belichtungszeit bis auf wenige Sekunden hatte keinen wesentlichen Einfluß auf den Abschußrhythmus. Stets begann etwa 27 Std nach dem Lichtstoß eine mehr oder minder ausgeprägte Abschußtätigkeit von wenigen Stunden mit gut profilierten

Abschußmaxima. Als Beispiel sei in Abb. 7 der Abschußrhythmus bei einer täglichen Belichtungszeit von 7,5 min wiedergegeben.

Allerdings ließen sich die Versuche mit kurzfristiger Belichtung in keinem Falle allzulange ausdehnen. Offenbar entwickelten sich die noch unreifen Fruchtkörper infolge der kurzen Lichtperioden nicht weiter. Für sie herrschte praktisch Dunkelheit. Auch wurden neue Fruchtkörper nicht mehr angelegt. Daher sanken die Abschußzahlen rasch ab. Die so erschöpften Kulturen mußten zur Erholung einige

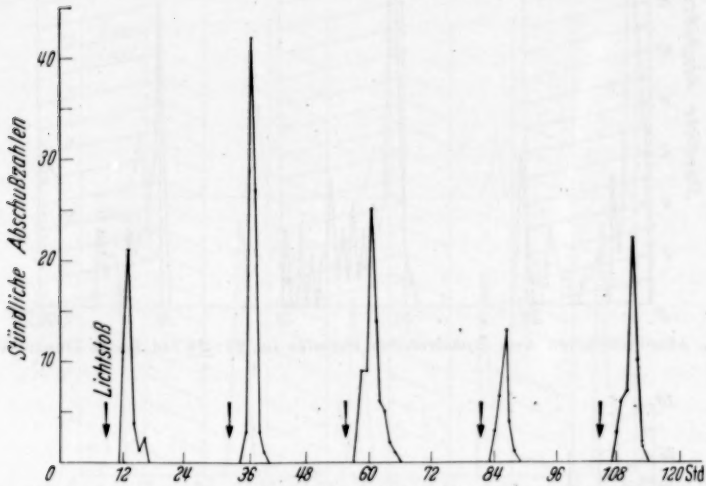


Abb. 7. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* bei einem täglichen Lichtstoß von 7,5 min

Zeit in den normalen 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel zurückgebracht werden. Sie blieben darin so lange, bis sie wieder zu schießen anfingen.

Jedenfalls können wir feststellen, daß zur Auslösung des Abschußmechanismus reifer Fruchtkörper von *Sphaerobolus* nur eine sehr kurze Anregung durch Licht erforderlich ist. Die Anlage neuer Fruchtkörper sowie ihre Weiterentwicklung erfordern dagegen, wie wir schon in unserer ersten Arbeit feststellen konnten, eine langfristige tägliche Belichtung.

i) 24:24 Std Licht-Dunkel-Wechsel. Da zwischen der Induktion der Abschüsse durch das Licht und dem Fortschnellen der Gleben gut 1 Tag verstreicht, mußten die Abschußgipfel in den Beginn einer jeden Dunkelperiode fallen. Das war auch ziemlich regelmäßig der Fall, wie Abb. 8 zeigt.

Die Kulturen blieben jedoch nach Abklingen der Maxima noch mehrere Stunden mit herabgesetzten und unregelmäßigen Abschußzahlen tätig, mitunter bis in die nächste Lichtperiode. Ferner öffneten sich zwar zahlreiche Fruchtkörper am Anfang der Lichtperiode, aber

sie kamen entweder nicht zum Abschuß, oder die abgeschnellten Gleben erreichten nicht das Fließband. Sie konnten daher nicht registriert werden. Da diese Erscheinungen im normalen 12:12 Std Licht-

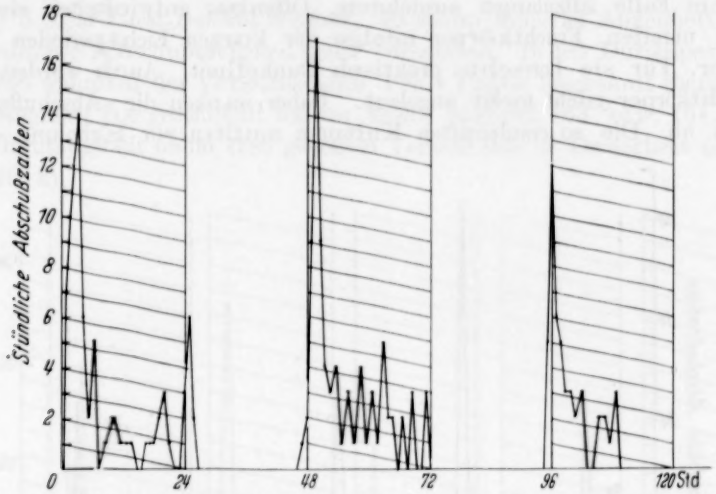


Abb. 8. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* im 24:24 Std Licht-Dunkel-Wechsel

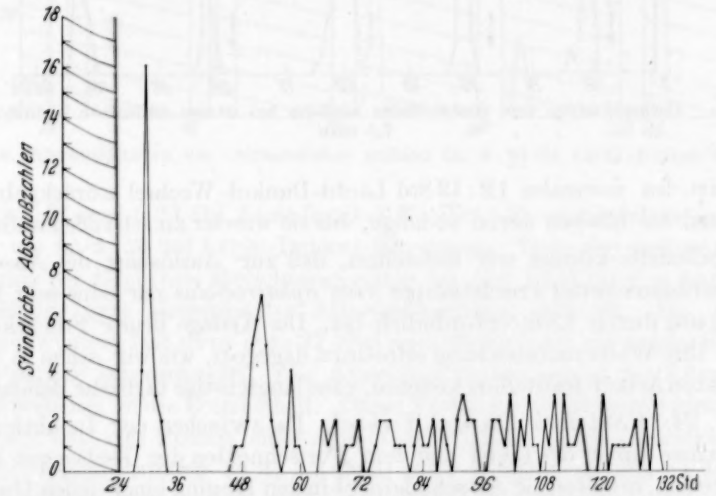


Abb. 9. Abschußkurven von *Sphaerobolus stellatus* beim Übergang vom 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel in Dauerlicht

Dunkel-Wechsel nicht auftraten, mußten sie mit der Verlängerung der Lichtperioden über 12 Std hinaus zu tun haben. Die Verlängerung der Dunkelheit kam dafür nicht in Frage, da 24stündige Dunkelperioden nicht den Abschußrhythmus störten (s. unter h).

k) Dauerlicht. Die Kulturen standen zunächst im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel und kamen dann in Dauerlicht. Erwartungsgemäß bildeten sich noch 2 Abschußmaxima heraus. Das erste höhere war durch die letzte 12stündige Lichtperiode induziert worden, das zweite schwächere durch den Beginn des Dauerlichtes (Abb. 9). Danach ging die Abschußrhythmik in kontinuierliches Dauerschießen über. Bemerkenswert ist auch hier, daß die im Dauerlicht pro 24 Std abgeschossene Anzahl der Gleben praktisch ebenso groß war wie im 12:12stündigen Cyclus.

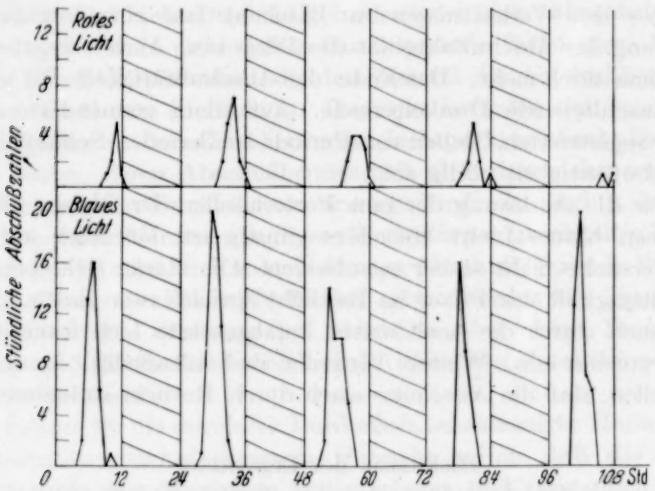


Abb. 10. Der Einfluß von rotem und blauem Licht auf den Abschußrhythmus von *Sphaerobolus stellatus* im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel

2. Die Wirkung von blauem und rotem Licht

Bisher ist nicht bekannt, welche Lichtart bei *Sphaerobolus* die Reaktionskette auslöst, die zum Abschuß der Gleben führt. Um diese Frage zu klären, wurden die folgenden, allerdings nur orientierenden Versuche angesetzt.

Die Kulturen wurden wie üblich bei weißem Licht im 12:12 Std-Licht-Dunkel-Wechsel herangezogen. Sobald die Abschußtätigkeit begann, wurde in den Strahlengang der Lichtquelle das Blaufilter BG 12 gebracht. Dieses läßt Licht der Wellenlängen 335—480 mμ durch, mit maximaler Durchlässigkeit zwischen 400—435 mμ.

Im Blaulicht änderte sich jedoch der Abschußrhythmus des Pilzes grundsätzlich nicht, wie Abb. 10 erkennen läßt. In den Lichtperioden verzögerte sich lediglich der Abschußbeginn. Er fiel in die 4.—5. Lichtstunde. Entsprechend verlagerten sich die Maxima in die 6.—7. Lichtstunde. Es ist möglich, daß die durch das Blaufilter herabgesetzte Lichtintensität hierfür verantwortlich war.

Auch die Einschaltung einer außerplanmäßigen Dunkelperiode in den 12:12stündigen Licht-Dunkel-Wechsel äußerte sich in der schon bekannten Weise: Der Pilz schoß während der zusätzlichen Dunkelperiode normal, in der darauffolgenden Lichtperiode fiel dagegen kein Schuß. Erst in der zweiten Lichtperiode begann die Abschußtätigkeit wieder, und zwar mit erhöhter Abschußzahl.

Zu dem Versuch mit rotem Licht wurde das Filter RG 1 benutzt, das unterhalb 580 mμ kein Licht durchläßt. Eine Überschneidung mit dem vom Blaufilter durchgelassenen Licht war somit ausgeschlossen. Gegenüber den Verhältnissen im Blaulicht trat eine merkliche Abschwächung der Abschußaktivität des Pilzes ein. Auch verspäteten sich die Maxima noch mehr. Das Ende der Abschußtätigkeit fiel mitunter in die anschließende Dunkelperiode. Außerdem verminderte sich die Zahl der registrierten Gleben von Periode zu Periode. Schließlich hörte die Abschußtätigkeit völlig auf.

Ob für die Auslösung der zum Fortschnellen der Gleben führenden Reaktionen blaues Licht besonders günstig ist, läßt sich auf Grund dieser Versuche nicht sicher entscheiden. Die starke Schwächung der Abschußtätigkeit des Pilzes im Rotlicht spricht zwar dafür, sie kann jedoch auch durch die noch weiter herabgesetzte Lichtintensität verursacht worden sein. Weitere Versuche sind notwendig. Immerhin ist festzustellen, daß die Abschüsse auch durch Rotlicht induziert werden können.

Diskussion der Ergebnisse

Im Dauerlicht schießt der Pilz seine Sporangiolen kontinuierlich ab, während im Dauerdunkel keine Abschüsse zu verzeichnen sind. Die Fruchtkörper können also ihre ganze Entwicklung von der Anlage bis zum Abschuß ihrer Gleben im Licht durchmachen. Im periodischen Licht-Dunkel-Wechsel treten dagegen periodisch wiederkehrende Abschußmaxima auf, getrennt von Zeitabschnitten ohne jede Abschußtätigkeit. Die Hauptzahl der Abschüsse drängt sich dabei auf wenige Stunden zusammen. Diese Häufung ist weitgehend unabhängig von der Dauer der Lichtperioden, denn sie wird schon nach einem nur wenige Sekunden dauernden, täglichen Lichtstoß beobachtet. Sie ist dagegen abhängig von der Länge der Dunkelperioden, denn die Abschußgipfel erhöhen sich in der Reihenfolge 3:3, 4:4, 6:6 und 12:12 Std Licht-Dunkel-Cyclus. Sie erhöhen sich auch, wenn außerplanmäßige Dunkelperioden eingeschoben werden. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß es die periodisch wiederkehrende Dunkelheit ist, die den Abschußrhythmus herbeiführt.

Um den Einfluß der Dunkelheit zu erklären, wollen wir den Entwicklungsgang der Fruchtkörper bis zum Abschuß der Sporangiolen folgendermaßen gliedern: 1. Lichtabhängige Anlage und Weiterentwicklung

der jungen Fruchtkörper bis zu einem bestimmten Stadium der Reife, das wir einstweilen nicht definieren können; Dauer mehrere Wochen. 2. Endgültige Reifung, d. h. Herstellung der Abschußbereitschaft unabhängig vom Licht, aber beschleunigt durch die Dunkelheit. Dauer dieser Entwicklungsphase unbekannt, sicher aber nur wenige Tage. 3. Induktion, d. h. Auslösung der zum Abschuß führenden Reaktionskette durch einen Lichtstoß; Dauer nur wenige Sekunden. 4. Lichtunabhängiger Ablauf der Reaktionskette in der Exoperidie der Fruchtkörper; Dauer etwa 27—30 Std. 5. Abschuß der Sporangiolen.

Im 12:12 Std Licht-Dunkel-Cyclus ereignet sich wahrscheinlich folgendes: Im Verlaufe einer jeden Dunkelperiode findet eine Ansammlung von Fruchtkörpern statt, die den Zustand der Abschußbereitschaft erreichen (Ende von Stadium 2). Darunter befinden sich auch solche, die erst später in der anschließenden Lichtperiode abschußbereit geworden wären, deren Abschußbereitschaft aber durch die sensibilisierende Wirkung der Dunkelheit vorverlegt wird. Zu Beginn der folgenden Lichtperiode werden alle diese Fruchtkörper gleichzeitig induziert (Stadium 3). In allen läuft sodann die zum Abschuß führende Reaktionskette ab (Phase 4). Etwa 27—30 Std später werden alle Sporangiolen abgeschossen. Die Streuung der Abschüsse über einige Stunden läßt erkennen, daß die Reaktionszeit bei den einzelnen Fruchtkörpern nicht ganz übereinstimmt.

Als Beweis für die durch die Dunkelheit beschleunigte Herbeiführung der Abschußbereitschaft kann die Tatsache gelten, daß die Abschußtätigkeit nach dem Maximum völlig erlischt und zwar noch vor dem Ende der betreffenden Lichtperiode. Demgegenüber hätte der Pilz bis in die ersten Stunden der folgenden Dunkelperiode weiter schießen müssen, wenn keine Sensibilisierung erfolgt wäre. Das konnte jedoch in keinem Fall beobachtet werden. Daraus folgt, daß in den Lichtperioden keine Fruchtkörper abschußbereit werden (Ende von Phase 2).

Ein Argument hierfür ist auch das Verhalten des Pilzes beim Übergang vom 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel in Dauerlicht (Abb. 9). Das erste Maximum im Dauerlicht entsteht durch den Anhäufungseffekt der vorletzten, das zweite durch den der letzten Dunkelperiode. Zwischen beiden liegt ein Zeitraum von etwa 12 Std, in dem kein Abschuß erfolgt, eben weil in der letzten Lichtperiode kein Fruchtkörper abschußbereit wird. Auf den zweiten Gipfel folgt unregelmäßiges Dauerschießen. Die dabei abgeschnellten Gleben werden ungefähr von der 12. Std der Dauerbelichtung ab sukzessive induziert, wie sich aus der Reaktionszeit von 27—30 Std ergibt. Daraus folgt, daß die Abschußbereitschaft ungefähr 12 Std früher eintritt, wenn die Kulturen vorher 12 Std verdunkelt werden.

Dies ergibt sich auch aus den Abschußkurven des 24:24 Std Licht-Dunkel-Wechsels (Abb. 8). Das zu Beginn jeder Dunkelperiode liegende

Maximum geht auf den Anhäufungseffekt der vorangehenden Dunkelperiode zurück. Dem Abschußgipfel folgt unregelmäßiges Dauerschießen, das etwa 27 Std vorher, in der Mitte der vorangehenden 24stündigen Lichtperiode ausgelöst wird.

In ähnlicher Weise lassen sich auch die Abschußrhythmen bei den übrigen Licht-Dunkel-Cyclen deuten, so daß es sich erübrigt, darauf näher einzugehen. Das Absinken der Gipfel mit kürzer werdenden Dunkelperioden ist eine Folge der Abschwächung des Anhäufungseffektes. Im 3:3 Std Licht-Dunkel-Wechsel ist dieser nur noch so geringfügig, daß eindeutige Maxima nicht mehr zu erkennen sind, und die Abschußkurven denen bei Dauerlicht gleichen.

Die baldige Erschöpfung der Kulturen an abschußbereiten Fruchtkörpern bei täglich nur kurzen Lichtstößen ist darauf zurückzuführen, daß sich die unreifen Fruchtkörper nicht weiter entwickeln (gehemmte Phase 1). Auch die etwa gleiche tägliche Abschußzahl bei den verschiedenen Licht-Dunkel-Cyclen findet eine Erklärung: In Kulturen, die unter gleichen Bedingungen herangezogen werden, erreicht täglich etwa die gleiche Anzahl Fruchtkörper das Ende von Phase 2, d. h. die Abschußbereitschaft.

Damit erweist sich der Abschußrhythmus der Fruchtkörper von *Sphaerobolus stellatus* als rein exogen. Eine endogene Komponente ist nicht erkennbar. Er ähnelt darin dem von INGOLD u. DRING (1957) untersuchten Abschußrhythmus der Ascosporen von *Sordaria fimicola*. Bei diesem Pilz ist das Licht zur Auslösung des Abschußmechanismus zwar nicht erforderlich, aber es fördert die Abschußtätigkeit sehr stark, besonders im Bereich des kurzwelligen sichtbaren Lichtes (INGOLD 1958). Bemerkenswert ist, daß auch bei *Sordaria* die Maxima in den Lichtperioden um so höher werden, je länger die unmittelbar vorangehenden Dunkelperioden sind. INGOLD führt diese Erscheinung auf Anhäufung reifer Asci in den Dunkelperioden zurück.

Auch darin möchten wir der Ansicht von INGOLD folgen, daß der Auslösung der zum Abschuß führenden Reaktionskette eine photochemische Reaktion zugrunde liegt. Die vom Licht angesprochene Substanz muß bei *Sphaerobolus* hoch lichtempfindlich sein, denn es genügt bereits ein kurzer Lichtstoß, um den Vorgang auszulösen. Vermutlich kommt es durch den Lichtreiz zur Zerstörung eines Inhibitors oder einer plasmatischen Struktur, und im Gefolge davon zur Mobilisierung glycolytischer Enzyme. Dunkelheit dagegen scheint die Bildung des Inhibitors (bzw. der hemmenden Plasmastruktur) zu fördern, denn im Dauerdunkel werden keine Fruchtkörper abgeschossen.

INGOLD u. Mitarb. (1957, 1959) haben ferner festgestellt, daß im Mycel und in den Fruchtkörpern von *Sordaria* im Lichtbereich unterhalb 550 mμ ein gelbes Pigment entsteht. Auch das erinnert an *Sphaerobolus*

stellatus, bei dem im Blaulicht ein oder mehrere Carotinoide auftreten, die ihren Absorptionsschwerpunkt bei etwa 460 mμ in Petroläther haben (FRIEDERICHSEN u. ENGEL 1957).

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß die in der Exoperidie von *Sphaerobolus* durch den Lichtimpuls in Gang gebrachte Reaktionskette (Stadium 4) nicht ganz ohne jede Beziehung zum Licht zu sein scheint. Sie läuft zwar auch im Dunkeln ab, jedoch mit einer gewissen Verzögerung. Das zeigt sich, wenn z. B. im 12:12 Std Licht-Dunkel-Wechsel eine außerplanmäßige Dunkelperiode eingeschoben wird. Das in diese Periode fallende Abschußmaximum tritt mit einer Verzögerung von etwa 3 Std auf (Abb. 3), verglichen mit der zeitlichen Lage der Maxima in den Lichtabschnitten. Offenbar wird der lichtempfindliche Inhibitor während längerer Dunkelheit rückgebildet. Dadurch wird der einmal ausgelöste Abschuß zwar nicht verhindert, wohl aber hinausgeschoben. Unsere Beobachtungen reichen jedoch nicht aus, um hierüber Endgültiges auszusagen.

Zusammenfassung

1. Im Dauerlicht schießt *Sphaerobolus stellatus* seine Sporangiolen kontinuierlich ab.

2. Im Dauerdunkel hört dagegen die Abschußtätigkeit auf.

3. Im periodischen Licht-Dunkel-Wechsel werden die Sporangiolen rhythmisch abgeschlossen, indem sich jeweils etwa 28—30 Std nach Beginn einer jeden Lichtperiode ein ausgeprägtes Abschußmaximum einstellt.

4. Die Mehrzahl der Abschüsse drängt sich dabei auf 2—3 Std zusammen.

5. Diese Häufung ist von der Länge der Lichtperioden unabhängig. Schon ein kurzer Lichtstoß genügt, um sie herbeizuführen.

6. Der Häufungseffekt wird dagegen von der Länge der Dunkelperioden beeinflußt. Er ist um so schwächer, je kürzer diese sind. Dunkelperioden von weniger als 3—4 Std Dauer bringen ihn zum Verschwinden.

7. Die Abschußmaxima kommen höchstwahrscheinlich dadurch zustande, daß sich in jeder Dunkelperiode abschußbereite Fruchtkörper ansammeln, deren Abschußmechanismus gleichzeitig zu Beginn der folgenden Lichtperiode ausgelöst wird.

8. Die Zahl der abschußbereiten Fruchtkörper wird noch erhöht durch die sensibilisierende Wirkung der Dunkelheit.

9. Der Abschußrhythmus der Fruchtkörper von *Sphaerobolus stellatus* läßt damit keine endogene Komponente erkennen. Er ist rein exogener Natur.

Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Wir danken Fräulein H. WACHENFELD für ihre Hilfe bei den Versuchsvorbereitungen.

Literatur

Friederichsen, I., u. H. Engel: Beiträge zur Kenntnis des Abschußrhythmus und des Farbstoffs von *Sphaerobolus stellatus* (Thode) Pers. Planta (Berl.) **49**, 578—587 (1957).

Ingold, C. T.: On light-stimulated spore discharge in *Sordaria*. Ann. Bot., N. S. **22**, 129—135 (1958).

Ingold, C. T., and V. J. Dring: An analysis of spore discharge in *Sordaria*. Ann. Bot., N. S. **21**, 465—477 (1957).

Ingold, C. T., and S. A. Hadland: Phototropism and pigment production in *Sordaria* in relation to quality of light. Ann. Bot., N. S. **23**, 425—429 (1959).

Professor Dr. H. Engel,
Hamburg 36, Staatsinstitut für Allgemeine Botanik, Jungiusstraße 6—8

Planta 55, 327—342 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DIE STEUERUNG DER SCHLIESSUNG UND ÖFFNUNG DES PLUMULA-HAKENS BEI KEIMLINGEN VON *LACTUCA SATIVA* DURCH SICHTBARE STRAHLUNG

Von

H. Mohr und A. Noblé

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Juli 1960)

1. Einleitung

In den vergangenen Jahren haben wir die Photomorphogenese der Keimlinge von *Sinapis alba* L. genauer studiert (Mohr 1957, 1959a und b; Mohr und Pichler 1960; Zusammenfassung bei Mohr 1960). Dabei haben wir festgestellt, daß die lichtabhängige Morphogenese dieser jungen Cruciferen-Keimlinge über 2 Photoreaktionssysteme gesteuert wird. Das eine dieser Reaktionssysteme ist das bekannte, in den letzten Jahren physiologisch intensiv bearbeitete „Reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem" (Zusammenfassung bei Mohr 1960 und Borthwick und Hendricks 1960). Das beteiligte „Reversible Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystem" ist nunmehr auch photochemisch zugänglich (Butler u. Mitarb. 1959). Das zweite bei *Sinapis alba* gefundene Photo-Reaktionssystem war bisher nicht bekannt. Wir mußten es auf Grund der physiologischen Befunde postulieren (Siegelman und Hendricks 1957, Mohr 1957). Auf Grund der Gipfelpositionen seines Wirkungsspektrums nennen wir dieses 2. Photoreaktionssystem der Morphogenese das „Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem". Bei diesem Reaktionssystem handelt es sich, im Gegensatz zum Reversiblen HR-DR-Reaktionssystem[1], um eine „Hochenergiereaktion" (= HER)[1], d. h. das Reaktionssystem kann nur dann nachgewiesen werden, wenn man über einen längeren Zeitraum hinweg (z. B. einige Stunden) wirksame Strahlung von relativ hoher Quantenstromdichte einstrahlt. Bei den *Sinapis alba*-Keimlingen wirken die beiden Photoreaktionssysteme stets synergistisch, d. h. man kann über beide Reaktionssysteme denselben Typ einer Photomorphose erzielen.

Eine der weiteren Fragen, die wir uns nun stellten, war die, ob die HER ähnlich weit wie das Reversible HR-DR-Reaktionssystem, das wir als eine Niederenergiereaktion = NER[1] bezeichnen, verbreitet sei — etwa im Gesamtbereich der potentiell grünen Pflanzen — oder ob die

[1] Folgende Abkürzungen werden verwendet: HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, HER = Hochenergiereaktion, NER = Niederenergiereaktion.

HER vielleicht eine Spezialität der bisher fast ausschließlich untersuchten Cruciferen-Keimlinge darstelle. Ferner stellten wir uns die Frage, ob HER und NER stets synergistisch wirken müssen oder ob es auch Fälle gibt, wo die beiden Reaktionssysteme antagonistisch arbeiten. — Mit Hilfe der jungen Keimlinge von *Lactuca sativa* L. konnten wir diese beiden Fragen beantworten. Es ließ sich zeigen, daß

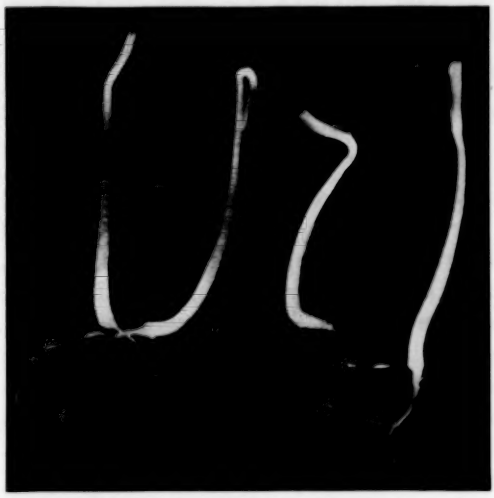


Abb. 1

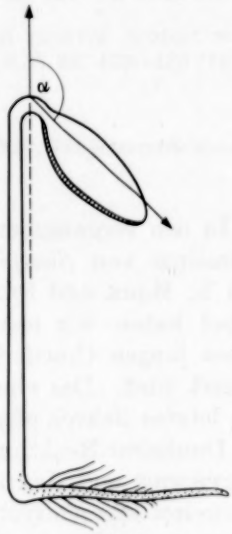


Abb. 2

Abb. 1 a—d. Keimlinge von *Lactuca sativa* L. var. Grand Rapids. a Dunkelkeimling: Es wird praktisch kein Plumulahaken gebildet. b Keimling 12 Std mit Hellrot bestrahlt: Als Folge der Hellrot-Bestrahlung hat sich ein Plumula-Haken gebildet. c und d Bei diesem Keimling wurde zunächst der Plumula-Haken mit Hellrot geschlossen (wie in b). Anschließend wurde der Keimling 12 Std lang mit Dunkelrot von relativ hoher Intensität bestrahlt. Als Folge dieser Bestrahlung hat sich der Plumula-Haken wieder geöffnet. (Bei c ist ein intermediäres Öffnungsstadium gezeigt)

Abb. 2. Schematische Darstellung eines Keimlings von *Lactuca sativa*. Es ist angegeben, wie der Winkel α durch die beiden Schenkel des Plumula-Hakens festgelegt wird (vgl. den Text)

auch bei diesen Compositen-Keimlingen die Photomorphogenese über diese beiden uns von *Sinapis alba* her vertrauten Photoreaktionssysteme gesteuert wird, und bei einer besonders interessanten Photomorphose dieser Keimlinge konnten wir nachweisen, daß die beiden Reaktionssysteme hier antagonistisch und nicht synergistisch wirken. Darüber soll nun berichtet werden.

2. Die untersuchte Photomorphose

Im Gegensatz zu vielen anderen Dikotylen-Keimlingen (vgl. etwa Sperlich 1912, Goebel 1924, Withrow u. Mitarb. 1957) bilden die Dunkelkeimlinge von *Lactuca sativa* var. Grand Rapids — ähnlich wie

gewisse andere Compositen-Keimlinge (vgl. SPERLICH 1912) — praktisch keinen oder nur einen sehr wenig ausgeprägten Plumula-Haken[1] (plumular hook, vgl. Abb. 1a). Wir werden indessen in dieser Arbeit zeigen, daß es Bedingungen gibt, unter denen auch die *Lactuca*-Keimlinge einen perfekten Plumula-Haken ausbilden können: Man kann nämlich den Hakenschluß durch eine Bestrahlung mit HR induzieren (Abb. 1b). Die Schließung des Plumula-Hakens wird ausschließlich über die NER gesteuert. Andererseits gibt es Strahlungsbedingungen, unter denen sich der mit HR geschlossene Plumula-Haken wieder öffnet. Diese Öffnung des geschlossenen Hakens wird über das Blau-DR-Reaktionssystem (die HER also) gesteuert (Abb. 1c und d). Wir wollen kurz zeigen, wie man den Zustand des Hakens quantitativ fassen kann (Abb. 2): Wir bestimmen unter dem Stereomikroskop in der in Abb. 2 angegebenen Weise den Winkel α, der durch die beiden Schenkel des Plumula-Hakens gegeben ist. Der apikale Teil des Keimlings wird hierzu auf eine mit einer Gradeinteilung versehene Glasplatte gelegt. Es wird auf 5^0 genau abgelesen. Der Winkel α ist die uns interessierende Reaktionsgröße.

3. Methodik

a) Material. Das verwendete, sehr homogene Achänenmaterial von *Lactuca sativa* L. (Grand Rapids, tip burn resistant strain) stammt von der Ferry-Morse Seed Co., Mountain View, California, USA. Es ist in den für uns wesentlichen Eigenschaften während der ganzen Dauer der Experimente praktisch konstant geblieben. — Bei den Achänen dieser *Lactuca*-Varietät handelt es sich um obligate Lichtkeimer. Der Lichteinfluß auf die Keimung geht über das Reversible HR-DR-Reaktionssystem. Wir mußten deshalb die gequollenen Achänen saturierend mit HR bestrahlen.

b) Bestrahlungsanlagen. Die verwendeten Bestrahlungsanlagen sind bei MOHR und SCHOSER (1959, 1960) genau beschrieben (Interferenzfilter — Monochromatoranlagen und Standardfelder für HR und DR), ebenso die Bedingungen und die Instrumente für die Messung der Quantenstromdichte. Das DR wurde mit den Cellophan-Farbfiltern hergestellt, das HR mit Hilfe der TL 40 W/15 — Röhren von Philips. Wenn „Weißlicht" angegeben ist, handelt es sich um die Strahlung der HNT-Röhren von Osram (Messung der Beleuchtungsstärke mit dem großen Beleuchtungsmesser von LANGE, Berlin-Zehlendorf).

c) Der allgemeine Versuchsansatz. Alle Versuche laufen bei 25^0 C ab. Die Achänen werden auf 3 Lagen Keimpapier (Charybdis-Löschpapier 9142/11) in farblosen Kunststoffdosen („Gerda"-Kühlschrankbehälter) ausgesät. Das Keimpapier wird vor der Saat 12 Std in destilliertem Wasser gequollen, dann wird das freie Wasser abgegossen. Pro Behälter werden 25 Achänen etwa äquidistant auf drei konzentrischen Kreisen mit Radius 2,5, 1,5 und 0,5 cm ausgesät. Nach der Saat werden 2 ml destilliertes Wasser hinzugefügt und die Dosen ins Dunkle gebracht. Bei

[1] In Übereinstimmung mit der englischen Bezeichnung „plumular hook" verwenden wir den in unserem Fall morphologisch nicht ganz korrekten Begriff „Plumula-Haken" für die Einkrümmungszone in der Spitzenregion zahlreicher Keimpflanzen. Ein knapper und klarer Begriff hat sich offenbar in der deutschen Literatur nicht durchgesetzt. Auch TROLL (1959) spricht nur allgemein von einer „apikalen Krümmung des Keimsprosses".

Beendigung der Versuche ist stets noch freies Wasser vorhanden. Die relative Luftfeuchtigkeit in den Behältern ist also während der Dauer der Versuche hoch und konstant. — 3 Std nach der Aussaat wird 5 min mit HR (Standard-Feld) bestrahlt. Damit ist bei allen keimfähigen Achänen die Keimung induziert. — 36 Std nach der Aussaat beginnt das Bestrahlungsprogramm. Der Zeitpunkt der Auswertung (Messung des Winkels α in der in Abschnitt 2 beschriebenen Weise) ist bei den einzelnen Versuchen angegeben. Zu Beginn der Auswertung kommen alle Dosen eines Ansatzes in einen Kühlschrank (+2 bis 4° C). Die Dosen werden dann einzeln aus dem Kühlschrank genommen.

d) Fehlerbetrachtung. Pro Dose werden 25 Achänen ausgesät, 20 Keimlinge werden ausgewertet, die 5 kleinsten (hinsichtlich der Länge des Hypokotyls) werden verworfen. In den Tabellen und Kurven dieser Arbeit sind stets Mittelwerte aus mehreren Parallelversuchen angegeben. Die Streuung der Population ist relativ gering. Bei 4 Parallelversuchen (= 80 Keimlingen) ist der relative mittlere Fehler des arithmetischen Mittels von α nicht höher als 5% (vgl. auch die Angaben des mittleren Fehlers in Abb. 11).

4. Experimentelle Ergebnisse

a) Induktion der Hakenbildung durch HR. In Abb. 3 wird der zeitliche Verlauf der Schließreaktion des Plumula-Hakens bei *Lactuca sativa* im Standard-HR-Feld angegeben. Bereits 20 Std nach Beginn des HR-Dauerlichts haben die Haken den maximalen Wert von α erreicht. Die Abb. 4 zeigt, daß die Bildung des Plumula-Hakens mit HR in der uns von anderen Objekten her vertrauten Weise induziert werden kann; die Tabelle 1 zeigt, daß die Induktion ausschließlich auf die NER zurückgeführt werden muß (die Bestrahlungszeit von 10 Std im Standard-HR-Feld kann durch 6 HR-„Stöße" von je 4 min Dauer quantitativ ersetzt werden, falls zwischen die einzelnen Stöße entsprechende Dunkelpausen eingelegt werden, vgl. hierzu Mohr 1959a). Bei einer entsprechenden Zeitreihe im Standard-DR-Feld (Abb. 5) beobachtet man einen merkwürdigen Kurvenverlauf. Bis zu einer Bestrahlungszeit von 64 min sind die Verhältnisse ganz ähnlich, wie wir sie von der Photomorphogenese der *Sinapis*-Keimlinge her kennen (vgl. Mohr 1959a und b): Der Kurvenverlauf erklärt sich quantitativ aus dem

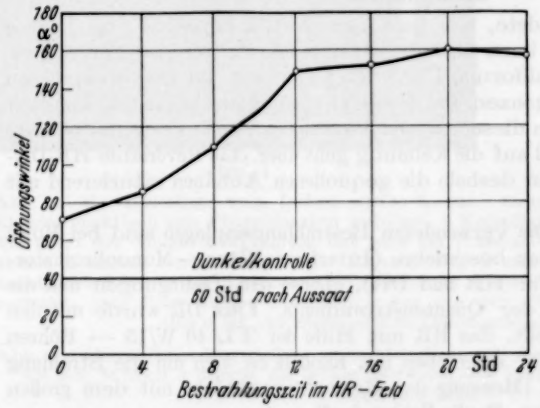


Abb. 3. Der Verlauf der Schließreaktion des Plumula-Hakens im Hellrot-Dauerlicht (Standard-HR-Feld). Beginn der Belichtung: 36 Std nach der Aussaat

leichten „HR-Effekt" des verwendeten DR (im Vergleich zur Dunkelkontrolle) im Rahmen der NER. Diese Tatsache geht klar aus Tabelle 2 hervor: 64 min DR-Dauerbestrahlung sind durch 2 DR-„Stöße" von je 4 min Dauer ersetzbar. Bei länger dauernder DR-Bestrahlung verringert sich der induzierte Effekt (also α) wieder, d. h. unter „Hochenergiebedingungen" wirkt DR der Hakenbildung entgegen.

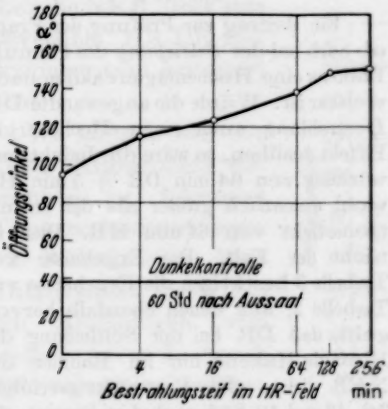


Abb. 4

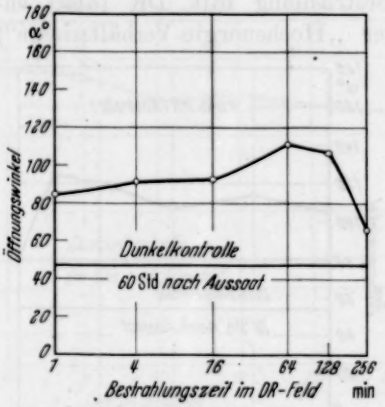


Abb. 5

Abb. 4. Der Winkel α in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im Standard-Hellrot-Feld. (Es wird 3mal mit den angegebenen Zeiten bestrahlt, und zwar 36, 42 und 48 Std nach der Aussaat. Die Auswertung erfolgt 60 Std nach der Aussaat)

Abb. 5. Der Winkel α in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im Standard-Dunkelrot-Feld. (Es wird 3mal mit den angegebenen Zeiten bestrahlt, und zwar 36, 42 und 48 Std nach der Aussaat. Die Auswertung erfolgte 60 Std nach der Aussaat)

Tabelle 1

Es wird demonstriert, daß der Effekt von 10 Std Hellrot ausschließlich über die Niederenergiereaktion zustande kommt (10 Std Hellrot können durch 6×4 min Hellrot ersetzt werden, falls man diese „Hellrotstöße" gleichmäßig über die Zeit von 10 Std verteilt). Die Hellrot-Bestrahlung beginnt 36 Std nach der Aussaat, die Auswertung erfolgt 60 Std nach Aussaat.

Δ D = Dunkelpause zwischen den einzelnen „Hellrotstößen".

Bestrahlungsprogramm mit Hellrot	α^0
3 × 8 min (Δ D = 5 Std) .	115
6 × 4 min (Δ D = 2 Std) .	145
10 Std Dauerlicht	144
Dunkelkontrolle (60 Std nach Aussaat) .	45

Tabelle 2

Es wird demonstriert, daß der Effekt von 3×64 min Dunkelrot (je 64 min, 36, 42 und 48 Std nach der Aussaat, Auswertung 60 Std nach Aussaat) ausschließlich über die Niederenergiereaktion zustande kommt und auf der geringen „Hellrotwirkung" des verwendeten Dunkelrot beruht. [Die 64 min Dunkelrot können quantitativ durch das Bestrahlungsprogramm (4 min DR — 56 min Dunkel — 4 min DR) ersetzt werden.]

DR = Dunkelrot, D = Dunkelheit.

Bestrahlungsprogramm	α^0
3 × 64 min DR	125
3 × (4 min DR — — 56 min D — 4 min DR)	127,5
Dunkelkontrolle (60 Std nach Aussaat) .	61

Wie zu erwarten ist, läßt sich im Rahmen der NER die HR-Induktion der Hakenbildung durch unmittelbar nachfolgende Bestrahlung mit dem Standard-DR in der üblichen Weise (vgl. Mohr 1960) reversibilisieren (Abb. 6). Auch bei dieser Kurve lassen sich die Verhältnisse bis zu einer Bestrahlungszeit von 64 min auf der Basis der NER allein quantitativ erklären. Bei längerer Bestrahlung mit DR (also unter „Hochenergie-Verhältnissen") beobachten wir auch hier (genau wie in Abb. 5) einen Abfall der Kurve, den wir auf eine von der NER unabhängige HER zurückführen müssen. — Unser Standard-DR macht also 3 verschiedenartige Effekte im Zusammenhang mit der Plumula-Haken-Bildung:

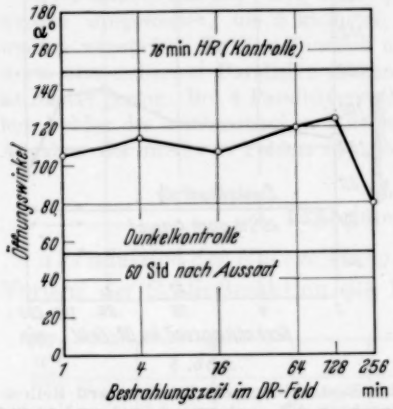


Abb. 6. Die „Reversibilisierung" der Hellrot-Wirkung (Induktion der Hakenbildung) durch unmittelbar nachfolgende Bestrahlung mit Dunkelrot (Standard-Feld). Es wird 36, 42 und 48 Std nach der Aussaat 16 min mit Hellrot bestrahlt (Kontrolle). Unmittelbar nach der Hellrot-Bestrahlung wird mit Dunkelrot bestrahlt. Die jeweilige Dauer der Dunkelrotbestrahlung ist auf der Abszisse angegeben. Die Auswertung erfolgte 60 Std nach Aussaat

Tabelle 3

Ein Beitrag zur Prüfung der Frage, ob auch bei der *Schließung* des Plumula-Hakens eine Hochenergiereaktion nachweisbar ist. Würde die angewandte DR-Bestrahlung auch einen Hochenergie-Effekt ausüben, so wäre die Induktionswirkung von 64 min DR + 5 min HR wohl *wesentlich* größer als der Induktionseffekt von 64 min HR. Dies ist nicht der Fall. Die Ergebnisse von Tabelle 3 bestätigen die Ergebnisse von Tabelle 2, aus denen ebenfalls hervorgeht, daß DR bei der Schließung des Plumula-Hakens nur im Rahmen der NER wirkt. (Die Bestrahlung erfolgte 36, 42 und 48 Std nach der Aussaat, die Auswertung 60 Std nach der Aussaat.)

DR = Dunkelrot, HR = Hellrot.

Bestrahlungsprogramm	α°
3 × 64 min DR	120
3 × 5 min HR	119
3 × 64 min HR	139
3 (64 min DR + 5 min HR)	141
Dunkelkontrolle (60 Std nach Aussaat) .	52

1. Verglichen mit Dunkelheit wirkt das DR unter Niederenergie-Bedingungen (also in unserem Fall bei relativ kurzen Bestrahlungszeiten) leicht im Sinn von HR.

2. Eine starke HR-Induktion wird durch nachfolgendes DR in der üblichen Weise reversibilisiert, sofern man Niederenergiebedingungen einhält.

3. Bei längerer Bestrahlung mit DR tritt offenbar eine HER in Erscheinung, die der durch HR induzierten Hakenbildung entgegen wirkt, aber nichts mit einer DR-Reversibilisierung der HR-Induktion im Rahmen der NER zu tun hat.

Ergänzend sei noch auf die Tabelle 3 hingewiesen, die uns ebenfalls zeigt, daß sich die Wirkung von 64 min DR (zum Bestrahlungsprogramm vgl. die Legende zur Tabelle 3) ohne Schwierigkeiten im Rahmen der NER erklären läßt. Bei der Induktion der Hakenschließung ist offenbar, dies zeigt uns auch diese Tabelle, keine HER nachweisbar. Wir können mit einiger Sicherheit sagen, daß die Hakenschließung *ausschließlich* über die NER, über das Reversible HR-DR-Reaktionssystem, gesteuert wird.

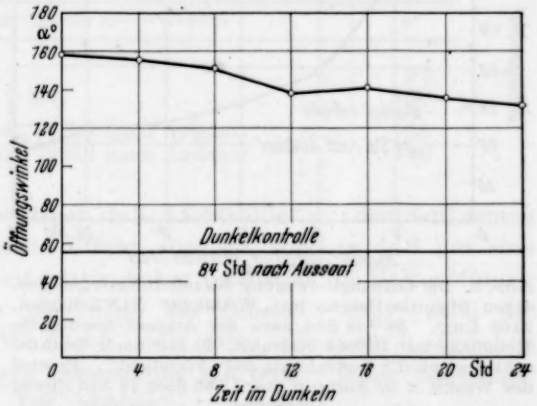


Abb. 7. Die Öffnungsbewegung des mit Hellrot geschlossenen Plumula-Hakens im Dunkeln. (36—48 Std nach Aussaat werden die Keimlinge mit Hellrot bestrahlt. 60 Std nach der Aussaat beginnt die Messung. Die „Zeit im Dunkeln" beginnt also 60 Std nach der Aussaat. Es wird der Winkel α im Abstand von 4 Std über 24 Std hinweg gemessen)

Wir können also die bisher dargestellten Ergebnisse in folgender Weise zusammenfassen: Die Bildung eines Plumula-Hakens kann bei den Keimlingen von *Lactuca sativa* L. durch HR induziert werden. Die Schließung des Plumula-Hakens wird ausschließlich über die NER gesteuert. Es gibt daneben offenbar eine HER, die der Hakenbildung entgegen wirkt bzw. über die die Öffnung des Plumula-Hakens gesteuert werden kann. Mit dieser HER wollen wir uns jetzt befassen.

b) Die strahlungsabhängige Öffnung des Plumula-Hakens. Wir gehen stets so vor, daß wir mit Hilfe von 12 Std HR (Standard-Feld) die Hakenbildung induzieren. Das HR wird 36—48 Std nach der Aussaat gegeben. 60 Std nach der Aussaat sind die Haken dann maximal geschlossen (α etwa 160°). Die Keimlinge werden nun wieder bestrahlt, und wir messen die Wirksamkeit der Strahlung hinsichtlich der *Öffnung* des Hakens. — Zunächst gibt uns die Abb. 7 eine Antwort auf die Frage, ob sich der mit HR geschlossene Plumula-Haken auch im Dunkeln wieder öffnet. Man sieht, daß im Dunkeln nur eine schwache Öffnungsbewegung zustande kommt. Im HNT-„Weißlicht" mittlerer Intensität dagegen öffnen sich die mit HR geschlossenen Haken schnell wieder (Abb. 8). Da das HNT-„Weißlicht" genügend HR für eine beständige Saturierung der NER enthält, liegt der Schluß nahe, daß in dem „Weißlicht" Wellenlängen vorhanden sind, die aktiv die Öffnung des Hakens bewirken. Allerdings kommt es auch im Dauer-HR (Standard-Feld) *höherer* Intensität schließlich wieder zu einer gewissen Öffnungsbewegung

des Hakens, die aber sehr viel langsamer abläuft als etwa im „Weißlicht" (Abb. 9). Da das HNT-„Weißlicht" praktisch kein DR enthält, dürfen wir annehmen, daß der kurzwellige Anteil des „Weißlichts", das „Blaulicht", besonders aktiv hinsichtlich der Öffnungsbewegung des Hakens ist. Die Öffnungsbewegung tritt jedoch nur ein, wenn das „Weißlicht" mit relativ hoher Intensität und langer Dauer gegeben wird (typische HER-Bedingungen). Abb. 10 zeigt uns, daß nur bei der höchsten Weißlichtintensität innerhalb der gewählten Versuchsdauer eine Öffnung zustande kommt. (Bei den niedrigeren Intensitäten beobachtet man, im Vergleich mit der 2. Kontrolle, sogar eine Förderung der Schließ-

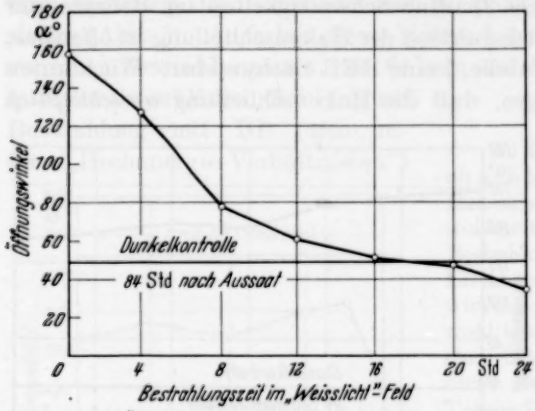


Abb. 8. Die Öffnungsbewegung des mit Hellrot geschlossenen Plumula-Hakens im „Weißlicht" (HNT-Röhren, 2100 Lux). 36—48 Std nach der Aussaat werden die Keimlinge mit Hellrot bestrahlt. 60 Std nach der Aussaat beginnt die Bestrahlung mit „Weißlicht". Es wird der Winkel α im Abstand von 4 Std über 24 Std hinweg gemessen

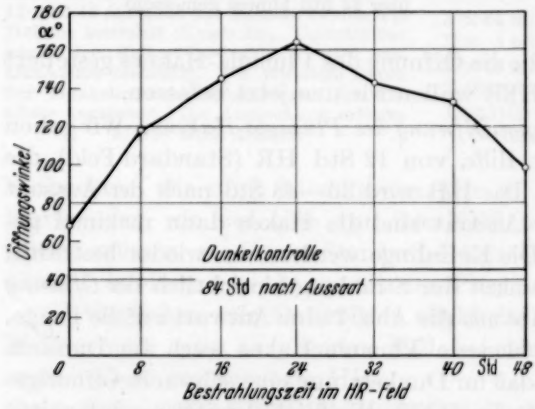


Abb. 9

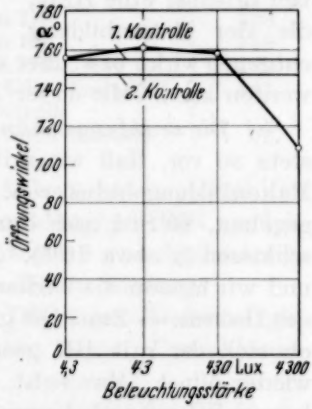


Abb. 10

Abb. 9. Die Bewegung des Plumula-Hakens im hellroten Dauerlicht (Standardfeld). Die Bestrahlung mit Hellrot beginnt 36 Std nach der Aussaat. Es wird der Winkel α im Abstand von 4 Std über 24 Std hinweg gemessen

Abb. 10. Die Abhängigkeit der Öffnungsbewegung des Plumula-Hakens von der Intensität des „Weißlichts" (HNT-Röhren). Die Keimlinge werden 36—48 Std nach Aussaat mit Hellrot bestrahlt. 60 Std nach Aussaat ist der Haken geschlossen (1. Kontrolle). Nun wird für 8 Std mit „Weißlicht" verschiedener Intensitäten (Neutralfilter) bestrahlt und danach sofort ausgewertet. Keimlinge, die kein „Weißlicht" erhielten, dienen als 2. Kontrolle

Tabelle 4

Ergebnisse, die zeigen, daß der Plumula-Haken nur mit Hilfe der Hochenergiereaktion geöffnet werden kann. „Lichtstöße" üben überhaupt keinen Effekt aus, sondern wirksam sind nur längere Bestrahlungszeiten mit relativ hoher Intensität.

[Bestrahlung mit Hellrot 36—48 Std nach der Aussaat. Beginn der Bestrahlung mit dem „Weißlicht" (HNT-Röhren, 2100 Lux) 60 Std nach der Aussaat. Auswertung 70 Std nach der Aussaat.]

Δ D = Dunkelpause zwischen den einzelnen Lichtstößen.

Bestrahlungsprogramm mit Weißlicht	$\alpha°$
10 Std Licht	92
5 × 5 min Licht (Δ D = 2 Std)	150
1. Kontrolle (nur Hellrot, 60 Std nach Aussaat). . . .	155
2. Kontrolle (nur Hellrot, 70 Std nach Aussaat) . . .	146

bewegung.) Tabelle 4 demonstriert, daß „Lichtstöße" mit dem wirksamen HNT-Licht überhaupt keinen Effekt ausüben, sondern daß nur eine längere Bestrahlungszeit mit relativ hoher Intensität die Hakenöffnung hervorbringt. Man kann allerdings, wie Tabelle 5 zeigt, auch die Öffnungsbewegung mit „Weißlicht" oder DR „induzieren", aber eben nur mit einer relativ langen Bestrahlung mit relativ hoher Intensität, nicht mit Weißlicht- bzw. DR-„Stößen".

Tabelle 5

Einige Resultate zu der Frage, ob auch die Hochenergiereaktion eine „induzierte" Reaktion ist, d. h. ob die Reaktion weiterläuft, wenn die wirksame Bestrahlung aufhört. Die Resultate zeigen, daß auch die Hochenergiereaktion „induziert" werden kann, falls man mit relativ hoher Intensität längere Zeit bestrahlt.

[Die Keimlinge werden 36—48 Std nach der Aussaat mit Hellrot bestrahlt. 60 Std nach der Aussaat ist der Haken geschlossen (1. Kontrolle). Nun setzt die Bestrahlung, die in der Tabelle angegeben ist, ein. Der Zeitpunkt der Auswertung ist in der Tabelle angeführt].

WL = HNT- „Weißlicht", 2100 Lux. Δ D = Dunkelpause zwischen den einzelnen „Lichtstößen". DR = Dunkelrot (Standard-Feld).

Bestrahlungsprogramm	$\alpha°$
1. Kontrolle[1] (Nur Hellrot, Auswertung 60 Std nach Aussaat) . . .	160
2. Kontrolle[1] (Nur Hellrot, Auswertung 84 Std nach Aussaat) . . .	136
6 Std WL (Auswertung 66 Std nach Aussaat).	132
6 Std WL (Auswertung 84 Std nach Aussaat).	55
4 × 5 min WL, Δ D = 2 Std (Auswertung 66 Std nach Aussaat) . . .	149
4 × 5 min WL, Δ D = 2 Std (Auswertung 84 Std nach Aussaat) . . .	144
12 Std DR (Auswertung 72 Std nach Aussaat)	83
12 Std DR (Auswertung 84 Std nach Aussaat)	58
7 × 5 min DR, Δ D = 2 Std (Auswertung 72 Std nach Aussaat) . . .	160
7 × 5 min DR, Δ D = 2 Std (Auswertung 84 Std nach Aussaat) . . .	131

[1] Auch hier beruhen die Unterschiede zwischen der 1. und der 2. Kontrolle lediglich auf der allmählichen Öffnung des Plumula-Hakens im Dunkeln.

Die bisher dargestellten Resultate zur Öffnungsbewegung der mit HR geschlossenen Plumula-Haken zeigen uns bereits, daß offenbar „Blaulicht" und DR bei der Auslösung der Öffnungsbewegung besonders wirksam sind und daß an der Öffnungsbewegung eine Hochenergiereaktion beteiligt ist. Es liegt nahe anzunehmen, daß es sich um die von *Sinapis alba* her bekannte HER (Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem) handelt. Daß diese Annahme richtig ist, zeigt uns das genaue Wirkungsspektrum der Öffnungsreaktion.

Bei der Aufstellung des Wirkungsspektrums hat sich die folgende Anordnung bewährt: 36 Std nach Aussaat erhalten die Keimlinge 12 Std HR (Standard-Feld), anschließend 12 Std Dunkel. 60 Std nach Aussaat sind die Haken mit einem Winkel von durchschnittlich 160° geschlossen. Nun werden die Keimlinge mit weitgehend monochromatischer Strahlung (einfache Interferenzfilter, kombiniert mit passenden Farbgläsern) von gleicher, relativ hoher Quantenstromdichte 12 Std lang bestrahlt. [Hierbei fanden sowohl die mit Projektionsglühlampen (Mohr und Schoser 1959) als auch die mit Xenon-Bögen (Mohr und Schoser 1960) arbeitenden Interferenzfilter-Monochromator-Anlagen Verwendung.] Unmittelbar nach Ende der Bestrahlung wird der Winkel α gemessen und in Abhängigkeit von der Wellenlänge λ aufgetragen (Durchschnittswerte aus 60 bzw. 80 Keimlingen). Das auf diese Weise entstehende Wirkungsspektrum ist in Abb. 11 angegeben, zusammen mit dem uns von *Sinapis alba* her bekannten Wirkungsspektrum der HER (vgl. Mohr 1959b, 1960). Es kann — wenn man die beiden Wirkungsspektren vergleicht — kein Zweifel bestehen, daß die Öffnungsbewegung des Plumula-Hakens bei *Lactuca sativa* L. var. Grand Rapids über das bereits bei *Sinapis alba* genauer untersuchte Blau-DR-Reaktionssystem gesteuert wird. Man sieht, daß die angewandte monochromatische Strahlung im HR-Bereich weiterhin die Hakenschließung *fördert* (Vergleich mit der Endkontrolle!).

Wir können also in der von *Sinapis alba* her gewohnten Terminologie zusammenfassend sagen: Die strahlungsabhängige Schließbewegung der Plumula-Haken von *Lactuca sativa* L. wird ausschließlich über das Reversible HR-DR-Reaktionssystem (NER) gesteuert, die aktive, strahlungsabhängige Öffnungsbewegung der mit HR geschlossenen Plumula-Haken wird ausschließlich über das Blau-DR-Reaktionssystem (HER) gesteuert. Es wird also offenbar auch bei *Lactuca sativa*-Keimlingen die Photomorphogenese durch diese beiden Photoreaktionssysteme kontrolliert. Während jedoch bei *Sinapis alba* die beiden Photoreaktionssysteme *stets* synergistisch wirken, arbeiten die beiden Photoreaktionssysteme bei *Lactuca sativa* ausgesprochen antagonistisch. Damit sind die beiden in der Einleitung gestellten Fragen klar beantwortet.

c) Einige Experimente mit „Weißlicht" (Osram-Leuchtstoffröhren, Type HNT). Die Strahlung, die die Leuchtstoffröhren emittieren, enthält zwar sehr wenig DR, jedoch viel HR und Blau. Wir dürfen daher erwarten, daß sowohl die NER als auch die HER bei Verwendung dieser Strahlung in Funktion treten. Nach dem, was wir bereits über die beiden Reaktionssysteme im Zusammenhang mit der Plumula-

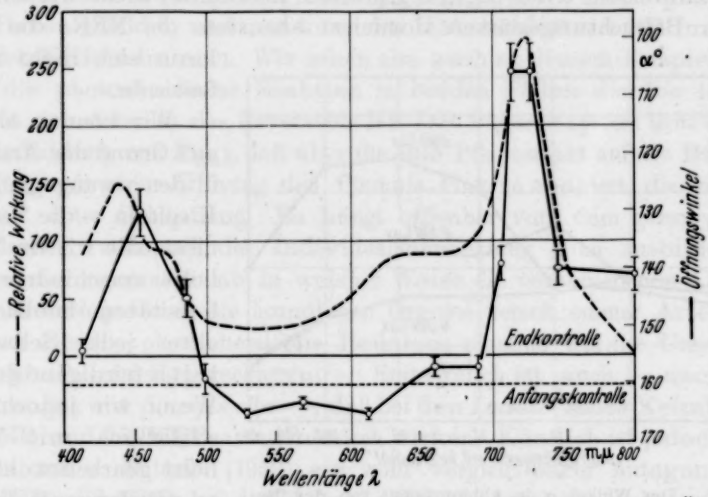


Abb. 11. Ein Wirkungsspektrum (ausgezogene Kurve mit Kreisen) für die Öffnungsbewegung des mit Hellrot geschlossenen Plumula-Hakens von *Lactuca sativa* L. [Die Keimlinge werden 36—48 Std nach Aussaat mit Hellrot bestrahlt. 60 Std nach Aussaat ist der Haken geschlossen (Anfangs-Kontrolle). Nun wird für 12 Std mit monochromatischer Strahlung bestrahlt, bei jeder Wellenlänge mit derselben Quantenstromdichte (Intensität bei 412 mμ = 3580 erg/cm^2 · sec). Unmittelbar nach der Bestrahlung wird der Winkel α bestimmt. Keimlinge, die keine monochromatische Strahlung erhielten, dienen als End-Kontrolle. Die Differenz zwischen der Anfangs- und Endkontrolle beruht auf der schwachen Öffnungsbewegung im Dunkeln, vgl. Abb. 7. Die Striche bei jedem Meßpunkt bezeichnen den einfachen mittleren Fehler des angegebenen Mittelwertes.] In der Abbildung ist noch gestrichelt das von *Sinapis alba* L. her bekannte Wirkungsspektrum der Hochenergiereaktion (Kotyledonenwachstum, vgl. Mohr 1959b) in schematischer Form angegeben

Hakenbildung wissen, müßten bei verschiedenen Intensitäten des verwendeten „Weißlichts" auch *qualitativ* ganz verschiedene Reaktionen auftreten. Dies ist in der Tat der Fall. Die Verhältnisse seien kurz dargestellt (vgl. Abb. 12). Das Weißlicht setzt stets 36 Std nach der Aussaat ein. Es wird der Winkel α im Abstand von 4 Std gemessen. Bei höheren Intensitäten (4300 Lux) tritt keine signifikante Hakenbildung ein. Erklärung: Es dominiert von vornherein die HER. Die NER kann sich überhaupt nicht mehr manifestieren. — Bei einer Beleuchtungsstärke von 2100 Lux beobachtet man vorübergehend eine leichte Hakenbildung. Erklärung: Zunächst tritt vorübergehend die NER in den Vordergrund, nach Einstrahlung größerer Energiemengen dominiert dann die HER, so daß der Haken wieder verschwindet. —

Bei einer Beleuchtungsstärke von 680 Lux bildet sich vorübergehend ein starker Haken aus, da sich unter diesen Bedingungen die HER gegenüber der NER erst nach längerer Bestrahlungszeit durchsetzen kann. — Bei geringen Intensitäten des Weißlichts treten dann Verhältnisse auf, die denen im HR niedriger Intensität weitgehend entsprechen, d. h. der Haken schließt sich innerhalb von 24 Std praktisch ganz und öffnet sich (zumindest während des geprüften Zeitraums) nicht wieder. Bei diesen Beleuchtungsstärken dominiert also stets die NER; die HER kann sich nicht manifestieren.

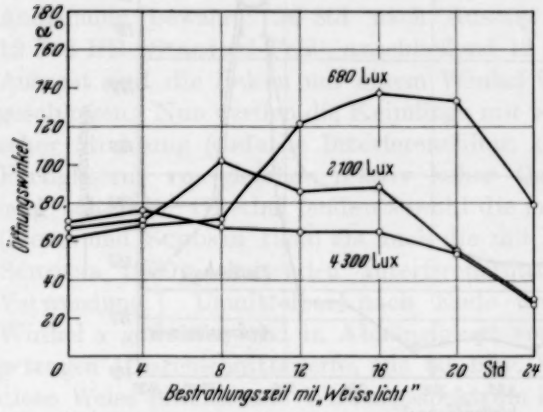


Abb. 12. Der Winkel α in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im „Weißlichtfeld" (HNT-Röhren) bei verschiedenen Intensitäten. Die Keimlinge werden 36 Std nach der Aussaat ins Dauerlicht gebracht. Es wird der Winkel α im Abstand von 4 Std über 24 Std hinweg gemessen

Wir können also — auf Grund der Analysen in den vorangegangenen Kapiteln — die Verhältnisse, die wir im Weißlicht verschiedener Intensitäten beobachten, ohne jede Schwierigkeit befriedigend deuten. Wenn wir jedoch ausschließlich mit Weißlicht gearbeitet hätten, so würden uns die beobachteten Reaktionen undurchsichtig und verworren erscheinen. Wir gelangen also auch bei diesem Beispiel der Schließ- und Öffnungsreaktion des Plumula-Hakens von *Lactuca sativa*-Keimlingen zu einer der grundsätzlichen Regeln der modernen Photobiologie, die etwa besagt, daß experimentelle Resultate, die mit „Weißlicht" (oder allgemeiner gesagt: polychromatischer Strahlung) erzielt wurden, im allgemeinen nur dann sinnvoll interpretiert werden können, wenn mit Hilfe monochromatischer Strahlung die beteiligten Photoreaktionen sorgfältig isoliert worden sind.

5. Diskussion

1. Die bei sehr vielen Keimlingen im Dunkeln auftretende Bildung eines Plumula-Hakens (früher auch „Gipfeleinkrümmung" oder „Durchbruchskrümmung" genannt) ist schon früh beobachtet und studiert worden (Zusammenfassung z. B. bei Sperlich 1912 und Goebel 1924). Merkwürdigerweise jedoch wird diese Erscheinung, die im Pflanzenreich weit verbreitet ist, in den üblichen neueren Lehrbüchern der Botanik kaum erwähnt. Im allgemeinen, z. B. bei *Phaseolus vulgaris* oder

Sinapis alba, ist es so, daß der Plumula-Haken im Dunkeln gebildet und daß seine Öffnung durch Licht beschleunigt bzw. erst ermöglicht wird (Sperlich 1912). Dieser Lichteinfluß wurde von Withrow u. Mitarb. (1957) bei *Phaseolus vulgaris* sorgfältig untersucht. Sie fanden, daß die Öffnung des Hakens über das Reversible HR-DR-Reaktionssystem gesteuert wird. — Im völligen Gegensatz dazu wird bei den von uns untersuchten *Lactuca sativa*-Keimlingen im Dunkeln praktisch kein Haken gebildet, und man kann den Hakenschluß mit HR im Rahmen der NER induzieren. Wir sehen also auch an diesem Beispiel, daß zwar die photochemische Reaktion in beiden Fällen dieselbe ist (es handelt sich stets um das Reversible HR-DR-Pigmentsystem und damit um die Bildung von P_{DR}), daß aber die eine Pflanzenart auf die Bildung von P_{DR} mit einer Öffnung des Plumula-Hakens reagiert, die andere Art mit einer Schließung. Es hängt offenbar von dem genotypisch festgelegten, während der Individualentwicklung sich ausbildenden Differenzierungsmuster ab, in welcher Weise die verschiedenen Organe eines Keimlings bzw. die homologen Organe verschiedener Arten auf ein und dieselbe photochemische Reaktion, nämlich auf die Umwandlung von P_{HR} in P_{DR} reagieren. — Erstaunlich ist auch — nach den Erfahrungen mit *Sinapis alba* —, daß bei den *Lactuca sativa*-Keimlingen die NER und die HER antagonistisch wirken. Kürzlich ist jedoch von Hendricks u. Mitarb. (1959) ein wohl vergleichbarer Antagonismus von HER und NER bei der Keimung der Achänen von *Lactuca sativa* var. Great Lakes beschrieben worden. Diese Achänen keimen im Dunkeln zu 100% und zeigen zunächst keine Reaktion auf Niederenergiebestrahlungen. Sie können jedoch über die HER in der Keimung gehemmt werden; der Effekt der HER wird durch eine anschließende Bestrahlung mit HR (im Rahmen der NER) aufgehoben. — In unserem Fall ist es offenbar so, daß die NER in den Zellen der prospektiven Konvexseite des Plumula-Hakens ein verstärktes Längenwachstum bewirkt (Hakenschluß), während über die HER das Längenwachstum der Zellen auf der Konkavseite des Plumula-Hakens gesteigert wird, so daß sich der Haken wieder öffnet. Eine genaue Analyse der zumindest physiologischen Dorsiventralität des Hypokotyls im prospektiven Hakenbereich sowie der histologischen und cytologischen Veränderungen im Bereich des Plumula-Hakens, die den in dieser Arbeit ausschließlich gemessenen morphologischen Veränderungen zugrunde liegen, wird in einer späteren Arbeit erfolgen.

Erwähnt sei noch ein Befund von Fitting (1922): Das Nicken der Mohnknospen (also ebenfalls eine Art Hakenbildung) ist eine Folge des positiven Geotropismus. Dieser positive Geotropismus der Papaverschäfte kann nur auftreten, wenn die Pflanzen intensive Belichtung erhalten. Weitere Schlüsse lassen die unzulänglichen experimentellen

Daten nicht zu. — Nach Sperlich (1912) soll im allgemeinen die Bildung des Plumula-Hakens auf einer positiv geotropischen Reaktion beruhen, die Öffnung dagegen mit Geotropismus nicht zu tun haben. Letzteres bestätigen die Befunde von Withrow u. Mitarb. (1957). Von unserer Seite liegen hierzu keine Experimente vor.

2. Die Theorie des Reversiblen HR-DR-Reaktionssystem ist heute sicher fundiert. Der Nachweis des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems in vitro und in vivo durch die photobiologische Arbeitsgruppe in Beltsville (z. B. Butler u. Mitarb. 1959) hat den klaren Beweis geliefert, daß die auf Grund der physiologischen Versuchsresultate entwickelten theoretischen Vorstellungen richtig sind (vgl. hierzu Borthwick und Hendricks 1960, Mohr 1960). P_{DR} ist offenbar ein Chromoproteid mit Enzymcharakter.

Anders ist es mit der Theorie der HER. Hendricks u. Mitarb. haben in mehreren Publikationen neben zahlreichen experimentellen Befunden zur HER auch ihre spekulativ-theoretischen Vorstellungen zu diesem System dargelegt (Hendricks und Borthwick 1959a und b, Hendricks u. Mitarb. 1959). Nach ihrer Auffassung soll die HER eine sensibilisierte photochemische Reaktion sein. Als Sensibilisator fungiert das Reversible HR-DR-Pigmentsystem im dynamischen Gleichgewichtszustand (steady state), also unter Bedingungen, unter denen beide Pigmentformen vorliegen und absorbieren. Ein Teil der Anregungsenergie von P_{HR} bzw. P_{DR} würde unter diesen Bedingungen nicht für die Umwandlung verwendet, sondern — formal ausgedrückt — auf ein Molekül A übertragen, das als Folge der Anregung dann zu B reagieren kann. Die sensibilisierte photochemische Reaktion A→ B wäre dann die photochemische Reaktion der HER. Diese geistvolle Hypothese läßt sich zwar momentan nicht klar widerlegen, aber wir haben doch gewisse Bedenken, die von Hendricks u. Mitarb. und von uns erzielten experimentellen Befunde in diesem Sinn zu interpretieren, da eine Reihe von experimentellen Daten nach unserer Auffassung dagegen sprechen (vgl. hierzu Mohr 1959b). In einer weiteren Arbeit (Mohr und Wehrung 1960), die sich ausschließlich mit der HER befaßt, werden wir auf unsere Kritik an der Hendrickschen Hypothese und auf unsere eigenen Vorstellungen zur Theorie der HER näher eingehen.

3. Welche Bedeutung die Bewegungsvorgänge im Bereich des Plumula-Hakens für die *Lactuca*-Keimlinge besitzen, wissen wir nicht. Auf entsprechende Spekulationen wollen wir verzichten (vgl. hierzu Goebel 1924). Wir befassen uns mit diesen Bewegungsvorgängen in erster Linie deshalb, weil hier eine leicht meßbare Reaktion vorliegt, die uns als empfindlicher Indicator für die in dem Keimling ablaufenden photochemischen Reaktionen dienen kann, an denen wir primär interessiert sind.

Summary

Dark grown seedlings of *Lactuca sativa* L. var. Grand Rapids (tip burn resistant strain) do not form an appreciable plumular hook. But a „normal" plumular hook, as is formed e. g. by *Phaseolus vulgaris* in complete darkness, can be induced by red light. It has been shown in this paper that the formation of the plumular hook in lettuce seedlings is controlled exclusively by the reversible red far-red reaction system („low energy reaction").

The hook which has been closed by red radiation can be reopened by light. In this respect only blue and far-red radiation are effective. The hook can only be reopened if blue or far-red are applied with rather high irradiances over a relatively long time period („high energy reaction"). The action spectrum and the kinetics of this high energy reaction show that this photoreaction is identical with the so called „blue, far-red reaction system" which we could demonstrate during recent years to be involved in the photomorphogenesis of the mustard seedling (*Sinapis alba* L.) and which apparently is also involved in many other photomorphogenic responses (cf. HENDRICKS et al. 1960). In mustard the low and the high energy reactions always function in a synergistic manner, in lettuce the opposite is true: The closing of the plumular hook is controlled by the reversible red, far-red system, the reopening of the hook is controlled by the blue, far-red system. In this way the two systems can be more clearly separated and characterized physiologically.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft möchten wir auch an dieser Stelle für ihre Unterstützung danken.

Literatur

BORTHWICK, H. A., and S. B. HENDRICKS: Effects of radiation on growth and development. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 16. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (im Druck).

BUTLER, W. L., K. H. NORRIS, H. W. SIEGELMAN and S. B. HENDRICKS: Detection, assay, and preliminary purification of the pigment controlling photoresponsive development of plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **45**, 1703—1708 (1959).

FITTING, H.: Über den Einfluß des Lichtes und der Verdunklung auf die Papaverschäfte. Jb. Bot. **61**, 1—23 (1922).

GOEBEL, K.: Entfaltungsbewegungen der Pflanzen, 2. Aufl. Jena: Gustav Fischer 1924.

HENDRICKS, S. B., and H. A. BORTHWICK: Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **45**, 344—349 (1959a).

HENDRICKS, S. B., and H. A. BORTHWICK: Photocontrol of plant development by the simultaneous excitation of two interconvertible pigments. II. Theory and control of anthocyanin synthesis. Bot. Gaz. **120**, 187—193 (1959b).

Hendricks, S. B., E. H. Toole, V. K. Toole and H. A. Borthwick: Photocontrol of plant development by the simultaneous excitations of two interconvertible pigments III. Control of seed germination and axis elongation. Bot. Gaz. **121**, 1—8 (1959).

Mohr, H.: Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypokotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. (= *Brassica alba* Boiss.). Planta (Berl.) **49**, 389—405 (1957).

Mohr, H.: Der Lichteinfluß auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **53**, 109—124 (1959a).

Mohr, H.: Der Lichteinfluß auf das Wachstum der Keimblätter bei *Sinapis alba* L. Planta (Berl.) **53**, 219—245 (1959b).

Mohr, H.: Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen, Teil 1. Ergebn. Biol. **22**, 67—107 (1960).

Mohr, H., u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959).

Mohr, H., u. G. Schoser: Eine mit Xenonbögen ausgerüstete Interferenzfilter-Monochromatoranlage für kurzwellige sichtbare und langwellige ultraviolette Strahlung. Planta (Berl.) **55**, 143—152 (1960).

Mohr, H., u. M. Wehrung: Die Steuerung des Hypokotylwachstums bei den Keimlingen von *Lactuca sativa* L. durch sichtbare Strahlung. Planta (Berl.) (in Vorbereitung).

Siegelman, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. **32**, 393—398 (1957).

Sperlich, A.: Über Krümmungsursachen bei Keimstengeln und beim Monokotylenblatt nebst Bemerkungen über den Phototropismus der positiv geotropischen Zonen des Hypokotyls und über das Stemmorgan bei Cucurbitaceen. Jb. Bot. **50**, 502—653 (1912).

Troll, W.: Allgemeine Botanik. Stuttgart: Ferdinand Enke 1959.

Withrow, R. B., W. H. Klein and V. Elstad: Action spectra of photomorphogenic induction and its photoinactivation. Plant Physiol. **32**, 453—462 (1957).

Prof. Dr. H. Mohr,
Botanisches Institut der Universität Freiburg i. Br.
Schänzlestr. 9—11.

Aufnahmebedingungen

I. Sachliche Anforderungen

Der Inhalt der Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören. Die Arbeit muß wissenschaftlich wertvoll sein und Neues bringen. Bloße Bestätigung bereits anerkannter Befunde können, wenn überhaupt, nur in kürzester Form aufgenommen werden. Vorläufige Mitteilungen werden nur ausnahmsweise aufgenommen. Polemiken sind zu vermeiden, kurze Richtigstellungen der Tatbestände ist zulässig.

II. Formelle Anforderungen

Originalarbeiten sollen nicht umfangreicher als zwei Druckbogen (à 16 Druckseiten) sein; Kurze Mitteilungen dürfen den Umfang von vier Druckseiten nicht überschreiten.

Das Manuskript muß leicht leserlich und einseitig geschrieben sein. Die Abbildungsvorlagen sind auf besonderen Blättern einzureichen, ebenso die Legenden. Die Arbeiten müssen knapp und sprachlich klar geschrieben sein. Ausführliche historische Einleitungen sind zu vermeiden. Die Fragestellung kann durch wenige Sätze klargelegt werden. *Der Anschluß an frühere Behandlungen des Themas ist durch Hinweis auf die letzten Literaturzusammenstellungen* (in Monographien, „Ergebnissen", Handbüchern) *herzustellen.*

Der Weg, auf dem die Resultate gewonnen wurden, muß klar erkennbar sein; jedoch hat eine ausführliche Darstellung der Methodik nur dann Wert, wenn sie wesentlich Neues enthält.

Für die Rechtschreibung ist die „wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt.

Jeder Arbeit ist eine kurze Zusammenfassung (höchstens 1 Seite) der wesentlichen Ergebnisse anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch nach freier Wahl des Autors abgefaßt sein kann. Inhaltsverzeichnisse können nicht abgedruckt werden.

Von jeder Versuchsart bzw. von jedem Tatsachenbestand ist in der Regel nur *ein* Protokoll im Telegrammstil als Beispiel in knappster Form mitzuteilen. Das übrige Beweismaterial kann im Text, oder wenn dies nicht zu umgehen ist, in Tabellenform gebracht werden; dabei müssen aber zu umfangreiche tabellarische Zusammenstellungen unbedingt vermieden werden. Es wird empfohlen durch eine Fußnote darauf hinzuweisen, in welchem Institut das gesamte Beweismaterial eingesehen und angefordert werden kann.

Die Abbildungen sind auf das unbedingt notwendige zu beschränken. Knappe Abbildungsunterschriften erübrigen nochmalige Beschreibung im Text. Unzulässig ist die doppelte Darstellung in Tabelle *und* Kurve. Für Halbtonbilder (Photos, Mikrophotos, Halbtonzeichnungen) sind reproduktionsfähige, d. h. scharfe, gut durchgezeichnete und tonwertreiche Vorlagen (Hochglanzabzüge) einzureichen. Die Beschriftung der Abbildungen mit Buchstaben und/oder Ziffern erfolgt durch den Verlag. Die Hinweise sind auf einem über die Vorlage geklebten Deckblatt einzureichen. Für schematische Schwarzweißzeichnungen, die als Strichätzungen reproduziert werden sollen, sind saubere, klare Skizzen abzuliefern, die vom Verlag umgezeichnet werden.

Literaturangaben, die nur im Text berücksichtigte Arbeiten enthalten dürfen, erfolgen mit vollständigem Titel der Arbeit, Zeitschriftentitel (in der Abkürzung nach den World Medical Periodicals), Band-, Seiten- und Jahreszahl. Die Literaturangaben sind am Schluß der Arbeit nach den Autorennamen (jeweils mit Anfangsbuchstaben des Vornamens) *alphabetisch* anzuordnen und nicht zu numerieren. Werden mehrere Arbeiten des gleichen Autors zitiert, so ist an der betreffenden Stelle im Text eine in Klammer gesetzte 1, 2 bzw. 3 hinter dem Autorennamen einzufügen. Im Literaturverzeichnis steht diese Zahl, ebenfalls in Klammern gesetzt, vor der betreffenden Arbeit. Bücher müssen mit vollem Titel, Auflage, Ort, Verlag und Jahr zitiert werden.

Die Beschreibung von Methodik, Protokollen und weniger wichtigen Teilen ist für Kleindruck vorzumerken. Autorennamen sollen (für KAPITÄLCHEN-Druck) doppelt, lateinische Namen der Objekte (für *Kursiv*-Druck) geschlängelt unterstrichen werden. In Kursiv-Druck können auch andere Worte des Textes gesetzt werden, die der Autor besonders hervorzuheben wünscht.

Das Zerlegen der Arbeit in mehrere Mitteilungen, um sie kürzer erscheinen zu lassen, ist unzulässig.

Doppeltitel sind aus bibliographischen Gründen unerwünscht. Das gilt insbesondere, wenn die Autoren in Ober- und Untertitel nicht die gleichen sind.

Danksagungen können in Form von Fußnoten zum Beitragstitel oder als kurzer Petitabschnitt am Schluß der Arbeit gebracht werden. *Festschriften* und *Monographien* gehören nicht in den Rahmen einer Zeitschrift.

In der Korrektur sollen nur Druckfehler verbessert, jedoch keine inhaltlichen oder stilistischen Änderungen vorgenommen werden. 10% der Satzkosten übersteigende Korrekturkosten müssen den Autoren in Rechnung gestellt werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Theoretische Biochemie

Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensvorgänge

Von Hans Netter,

o. ö. Professor der physiologischen Chemie an der Universität Kiel

Mit 243 Textabbildungen. IX, 816 Seiten Gr.-8°. 1959.

Ganzleinen DM 88,—

INHALTSÜBERSICHT

Statik: Teilchen und Kräfte in molekularen Dimensionen. Wasser, Diffusion, Osmose. Die Elektrolyte. Phasen und Grenzflächen. Hochmolekulare Strukturbilder.

Dynamik: Energetische Grundlagen der Lebensvorgänge. Physikalische Grundlagen der biologischen Oxydationen. Biologische Verwendung und Schaffung freier chemischer Energie. Die Steuerung der Geschwindigkeit biochemischer Reaktionen. Dynamische und strukturelle Funktionseinheiten · Anhang · Literatur- und Sachverzeichnis.

AUS DEN BESPRECHUNGEN

„... Überall werden die notwendigen mathematischen Ableitungen gebracht, die es dem Leser ermöglichen, zu den quantitativen Beziehungen vorzudringen und so dem Ziel näherzukommen, das der Verf. verfolgt: die chemischen Reaktionen in ihrer biologischen Funktion zu verstehen und die hierfür notwendigen Hilfsmittel der physikalischen Chemie für den Biologen und Mediziner zu ordnen. Dabei wird ein gewisses biochemisches und physikalisches Wissen vorausgesetzt; mancher aus dem Kreis, an den sich das Buch richtet, wird angeregt werden, durch das Studium einer breiteren elementaren Darstellung sich weiter in die Grundlagen einzuarbeiten. Vergleicht man das Buch mit früheren Werken von ähnlicher Zielsetzung, wie mit Höbers grundlegendem Buch, so fällt das Zusammenwachsen der Probleme auf, die man herkömmlicherweise als biochemische und zellphysiologische zu trennen pflegt. Die Wechselwirkung von biologischer Struktur und Funktion, die uns wieder stärker zum Bewußtsein gekommen ist, durchzieht alle Kapitel des Buches, das seinen krönenden Abschluß im letzten Abschnitt „Dynamische und strukturelle Funktionseinheiten" findet, welcher von der thermodynamischen und kinetischen Analyse stationärer Systeme zur biologischen Reaktionslenkung, den Voraussetzungen des Wachstums, Permeabilität und Stofftransport fortschreitet ..." *Berichte über die gesamte Biologie, Abt. A: Biologie*

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany